

BAND 31, HEFT 2

DEZEMBER 1957

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

Unter Mitwirkung von

Prof. Dr. E. Baldacci, Mailand / Prof. Dr. H. Braun, Bonn / Prof. Dr. W. B. Brierley,
Keswick-Cumberland / Prof. Dr. T. Hemmi, Kyoto / Oberreg.-Rat i. R. Dr. E. Köhler,
Braunschweig / Prof. Dr. K. O. Müller, Canberra / Prof. Dr. H. M. Quanjer, Wageningen
Prof. Dr. Tr. Savulescu, Bukarest / Prof. Dr. E. C. Stakman, St. Paul

herausgegeben von den Professoren

E. Gäumann
Zürich

M. Klinkowski
Aschersleben

H. Richter
Berlin-Dahlem



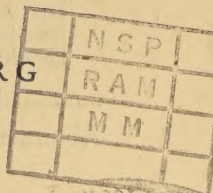
Mit 42 Abbildungen

1957

PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

Phytopath. Z. Bd. 31 Heft 2 S. 113—224 Berlin 1957

Postverlagsort Berlin



30 DEC 1957

INHALT

Abhandlungen

DOMES, R., Eine Abbauerscheinung bei der Erdbeersorte Madame Moutot. Mit 4 Abb.	113
SCHUSTER, G., Untersuchungen über die Auswirkungen von Virusbefall auf den Alkaloidgehalt von <i>Datura stramonium</i> L. var. <i>stramonium</i> . Mit einer Abb.	123
BERCKS, R., BURGHARDT, H., und W. STEUDEL, Serologische Untersuchungen zur Infektion von Beta-Rüben mit dem Vergilbungsvirus (<i>Beta Virus 4</i>) durch <i>Myzodes persicae</i> Sulz. und <i>Doralis fabae</i> Scop.	133
USCHDRAWET, H. A., und H. VALENTIN, Untersuchungen über ein Kruziferen-Virus. Mit 7 Abb.	139
HEROLD, F., Zur Symptomatik und Schadwirkung des Kohlschwarzringfleckenvirus. Mit 13 Abb.	149
VERONA, O., e P. GAMBOGI, Disformie e Disfunzioni in <i>Pseudomonas savastanoi</i> (Smith) Stevens. Con 7 figure	158
PILET, P.-E., Activité anti-auxines-oxydasique de l' <i>Uromyces pisi</i> (Pers.) de By parasite d' <i>Euphorbia cyparissias</i> L. Avec 3 figures	162
JUNG, J., und CHR. STOLL, Über die Hemmwirkung des Gynäzeums bei <i>Primula obconica</i> auf Bakterien und Pilze. I. Über Schwankungen der Hemm-Intensität. Mit einer Abb.	180
KIESSIG, R., und R. HALLER-KIESSIG, Beitrag zur Kenntnis einer infektiösen Welkekrankheit der Luzerne (<i>Verticillium albo-atrum</i> R. et B.). Mit 6 Abb.	185
Buchbesprechungen	223

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.

„Kurze Mitteilungen“ sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.

Die „Besprechungen“ erscheinen nur in deutscher Sprache.

Herausgeber: Prof. Dr. E. GÄUMANN, Zürich 6, Universitätsstraße 2, Prof. Dr. M. KLINKOWSKI, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. RICHTER, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 19.

Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen“ entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 61, Lindenstraße 44/47, oder an einen der drei Herausgeber.

Zusendung der „Besprechungen“ unmittelbar an Prof. RICHTER, Berlin-Dahlem. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. RICHTER vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen“ beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die ersten drei Bogen honoriert; Dissertationen und Buchbesprechungen sind honorarfrei.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 20 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

Erscheinungsweise: Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 10—12 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jeder Band enthält etwa 30 Druckbogen.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 3,— DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich. Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Eine Abbauerscheinung bei der Erdbeersorte Madame Moutot

Von

R. DOMES

Mit 4 Abbildungen

Während der letzten Jahre wurden in deutschen Anbaugebieten immer wieder Abbauerscheinungen an der Kulturerdbeere festgestellt, ohne daß man die Ursache hierfür finden konnte. Die befallenen Pflanzen blieben im Verlauf der Jahre in ihrem Wachstum zurück, sie verzweigten und trugen nur sehr kleine Blätter mit gelegentlich verkräuselter Blattoberfläche, kurzen Blattstielen und kurzen Ausläuferinternodien. Gleichzeitig verringerte sich die Ausläufer- und Blütenbildung. In besonders schweren Schadensfällen war schließlich eine Klärung der Ursache dringend notwendig, da sich die Verzweigungserscheinung in einem Erdbeeranbaug Gebiet ausdehnte und nach dem unnatürlich raschen Absterben der verkümmerten Erdbeerpflanzen große Kahlstellen in den Anlagen hinterließ.

Gewisse Anhaltspunkte für die Diagnose brachten uns die zahlreich vorliegenden ausländischen Arbeiten über Erdbeerkrankheiten, insbesondere über Virose. Leider wurden diese Beobachtungen an Erdbeersorten gemacht, die in den deutschen Anbaugebieten nicht zu finden sind, so daß eine direkte Übertragung der Symptomatik für deutsche Anbausorten nicht möglich war. Eine andersartige Reaktion der deutschen Sorten war durchaus möglich. Starker Befall mit der Erdbeermilbe *Tarsonemus fragariae* führt bekanntlich auch zu Verzweigungen, doch weisen die befallenen Blätter scharf nach abwärts geknickte Blattränder und eine braungrüne Färbung auf. Diese Milbensymptome und auch die Milben fehlten den verzweigten Erdbeerpflanzen. Schlechte Kulturbedingungen, die nach RIVOIRE (1931) eine Verschmälerung der Erdbeerblätter und Verkleinerung der Früchte bewirken sollen, können in den Anbaugebieten nicht vorgelegen haben. Der Boden wurde jährlich gut abgedüngt. Außerdem blieben die für Versuche entnommenen, verzweigten Erdbeerpflanzen auch nach dem Einsetzen in Einheitserde unverändert. Ähnliche Abbauerscheinungen, wie die eingangs erwähnten, wurden von PLAKIDAS (1928) unter der Bezeichnung „dwarf“ beschrieben. Der den „dwarf-Wuchs“ verursachende Nematode *Aphelenchus fragariae* (= *Aphelenchoides fragariae*) ist für Deutschland nicht selten; in den verzweigten Erdbeerpflanzen fanden wir ihn aber nicht.

Die vorausgegangenen Versuche und die den Mutterpflanzen im Krankheitsbild gleichenden Tochterpflanzen gaben zu dem Verdacht Anlaß, es handle sich bei dem Abbau um Folgeerscheinungen einer Viruskrankheit. Einige Vorversuche hatten bewiesen, daß in den verzweigten Pflanzen ein viröses Agens vorhanden ist. Im Verlauf der folgenden Untersuchungen wurden in Versuchsreihen die für ein Virus charakteristischen Merkmale, wie Inkubationszeit, Persistenzzeit im Vektor *Passerinia fragaefolii* Cock., die minimale Infektions- und Testsaugzeit und außerdem die Symptome für die Testpflanze *Fragaria vesca* L. bestimmt. Durch die grundlegenden Arbeiten von PRENTICE und HARRIS (1946) und PRENTICE (1948, 1949, 1952) wurde eine sichere Arbeitsmethode und die charakteristischen Daten für die Erdbeerviren 1—5 (nach PRENTICE) bereits ermittelt. Die Versuchsanordnung wurde deshalb so gewählt, daß die Erdbeerviren 1—5 mit erfaßt werden mußten, falls sie in den geprüften Pflanzen vorhanden waren. Über die Größe und die Form der übertragenen Viren, ihr chemisches und serologisches Verhalten kann noch nichts ausgesagt werden, da auch die Methode nach CARNUET (1952) den Einfluß der Gerbstoffe der Erdbeerpflanze bei der Isolierung von Viruseiweiß nicht vollständig auszuschalten vermag. Die Reindarstellung von Viruseiweiß der Erdbeerviren gelang bisher noch nicht.

Material

Die Versuchspflanzen entnahmen wir 1954 einem Erdbeerfeld bei Schorn-dorf. In diesem Felde war seit dem Jahre 1953 die Wuchsstärke der Erdbeerpflanzen auf großen Flächen zurückgegangen, so daß 1954 große Kahlstellen oder verkümmerte und verzweigte Erdbeerpflanzen verblieben. Die Einzelpflanzen waren klein und verkümmert. Ihre Größe betrug im Extremfall nur $\frac{1}{30}$ der gesunder Pflanzen. Auch die Blattfläche blieb klein, verkräuselt und verzogen. Kurze Blattstiele und kurze Ausläuferinternodien waren die Regel. Die Ausläufer zeigten die gleichen Symptome wie die Mutterpflanzen. Häufig erfolgte kein Blütenansatz, kam es jedoch zur Fruchtbildung, so blieben die Erdbeeren klein und unansehnlich. Die Oberfläche der verkümmerten Früchte war dann mit zahlreichen Nüsschen besetzt. Bei besonders stark abgebauten Pflanzen fehlte nicht nur die Blüten-, sondern auch die Ausläuferbildung.

Mehrere Pflanzen, sowohl verzweigte, als auch gesund aussehende, pflanzten wir 1954 auf das Institutsgelände und beobachteten sie während der Jahre 1954 und 1955. Die verzweigt eingebrachten Erdbeerpflanzen (Abb. 1) verkümmerten gewöhnlich noch stärker, die gesund aussehenden blieben für gewöhnlich unverändert. Für die folgenden Versuche wählten wir eine nicht so stark abgebaute Erdbeerpflanze aus, da an extrem verkümmerten Pflanzen die für eine Versuchsreihe notwendige Mindestzahl von 200 bis 250 Vektoren während der Infektion nicht genügend Platz finden und dann abwandern. Von den gesund aussehenden Pflanzen wählten wir eine aus,

die während der Beobachtungszeit gleichbleibend gesund ausgesehen hatte.

Die für die Übertragung ausschließlich verwendeten *Passerina fragaefolii* wurden einer Stammkultur entnommen, die bereits seit 1954 auf *Potentilla anserina* gehalten wurde. Diese Pflanzen waren frei von Erdbeerviren und sicherten eine gute Vermehrung der Läuse.

Als Testpflanzen dienten Sämlinge von *Fragaria vesca* L., Typ East Malling, im 4- bis 5-Blattstadium. In dieser Entwicklungsstufe sprechen sie auf eine Virusinfektion besonders gut an.



Abb. 1. Verzweigte Erdbeerpflanze der Sorte Madame Moutot

Methodik

Vor jeder Übertragung wurde die notwendige Anzahl an Vektoren, in unserem Falle von *Passerina fragaefolii*, von der Stammkultur mit einem feinen Dachshaarpins in eine mit feuchtem Filtrierpapier ausgelegte Petrischale gefegt. Hier hungerten sie 2 Stunden lang, bevor sie auf die Infektionsquelle, die zu testende Madame-Moutot-Erdbeerpflanze, gesetzt wurden. Das Einschalten einer Hungerzeit vor der Infektion ist besonders bei kurzzeitigen Infektionen notwendig, damit die aufgesetzten Läuse für die Dauer ihres Aufenthaltes auf der Infektionsquelle ununterbrochen Viruseiweiß aufnehmen.

Während der „Infektionssaugzeit“, der Saugzeit an der Infektionsquelle, blieb die mit Läusen besetzte Pflanze in einem insektensicheren Käfig, um das Abwandern und Fremdinfectionen zu verhindern. Nach der Infektion wurde zur Ermittlung der Persistenzzeit des aufgenommenen Virus eine zeitlich variierende Hungerzeit eingeschaltet. Sie betrug 2 und 4 Stunden. Außerdem wurden die infizierten Vektoren für 9 Tage an *Potentilla anserina* gesetzt, da sie über 24 Stunden hinausgehende Hungerzeiten nicht überstehen, das Gänsefingerkraut aber für die bisher geprüften Erdbeerviren resistent ist.

Nach der Infektionssaugzeit (ISZ) oder nach der Zwischenhungerzeit wurden je 10 infizierte Blattläuse pro Testpflanze abgezählt. Die hohe Zahl an Vektoren bietet eine gewisse Sicherheit für den Übertragungserfolg, der bei Verwendung der Minimalzahl von 2—4 Vektoren leicht in Frage gestellt ist. Durch Überstülpen von kleinen mit Luvithermfolie und Batist bespannten

Tabelle 1
Versuchsdaten
für die Übertragungen mit *Passerinia fragaefolii* Cock.

Infektionsquelle: verzweigte Erdbeerpflanze der Sorte Madame Moutot

Nr.	Infektions- saugzeit	Zwischen- hungerzeit	Testsaugzeit	Übertragungs- ergebnis	Inkubations- zeit
1	1 Stunde		3 Tage	4/10	15 Tage
2	1 Stunde	2 Stunden	3 Tage	5/10	10 Tage
3	1 Stunde	4 Stunden	3 Tage	ohne Symptome	
4	24 Stunden		3 Tage	8/10	9 Tage
5	24 Stunden	9 Tage an <i>P. anserina</i>	3 Tage	ohne Symptome	
6	48 Stunden	2 Stunden	3 Tage	8/10	10 Tage
7	48 Stunden	4 Stunden	3 Tage	4/10	10 Tage
8	7 Tage		10 Tage	10/10	12 Tage
9	7 Tage	2 Stunden	10 Tage	5/10	15 Tage
10	7 Tage	4 Stunden	10 Tage	ohne Symptome	

Reihenübertragungen:

11	15 Tage		1 Stunde	7/10	12 Tage
12	15 Tage		2 Stunden	5/10	14 Tage
13	15 Tage		3 Stunden	1/10	14 Tage
14	15 Tage		5 Stunden	ohne Symptome	
15	15 Tage		13 Stunden	ohne Symptome	
16	15 Tage		24 Stunden	3/10	60 Tage
17	15 Tage		48 Stunden	ohne Symptome	

Käfigen über die in Einheitserde getopften Testpflanzen wurden Fremdinfektionen während der Testsaugzeit vermieden. Die für die einzelnen Versuche sehr verschiedene Länge der Infektions-, Test- und Zwischenhungerzeit kann aus den Tabellen 1 und 2 ersehen werden.

Außer diesen Versuchen wurden noch Reihenübertragungen (siehe Tab. 1 und 2) durchgeführt und folgendermaßen verfahren:

10 Testpflanzen wurden mit je 10 *Passerinia fragaefolii* besetzt, die vorher 15 Tage an der virusinfizierten Pflanze gesessen hatten. Nach einstündiger Testsaugzeit (TSZ) wurden die Läuse abgesammelt und zu je 10 Stück auf eine neue Reihe von 10 Testpflanzen aufgesetzt. Von dieser zweiten Versuchspflanzenreihe wurden sie nach 2 Stunden abgesammelt und auf eine dritte Reihe von 10 *Fragaria vesca* übertragen, hiervon nach 3 Stunden auf eine vierte Reihe für 5 Stunden übergesetzt. Dies wurde bei Einhaltung der in Tabelle 1 und 2 verzeichneten TSZ solange fortgesetzt, bis alle Läuse abgestorben waren. Die ISZ, TSZ und Zwischenhungerzeiten und alle übrigen Versuchsanordnungen waren für die Versuche mit der verzweigten Madame-

Moutot-Erdbeere genauso gewählt worden wie für die gesund aussehende. Außerdem wurden die entsprechenden Versuche sowohl für die verzweigte als auch für die gesund aussehende Erdbeerpflanze am gleichen Tage ausgeführt.

Nach Abschluß der TSZ wurden die Testpflanzen mit E 605 (0,05 %) oder Systox (0,05 %) besprüht und die Vektoren abgetötet. Zur weiteren Beobachtung standen die infizierten Indikatorpflanzen in einem Gewächshause. Sie wurden durch wöchentliche Spritzungen mit Insektiziden vor erneutem Befall mit infizierten Läusen geschützt. Bis zum Erscheinen der ersten Symptome wurden die Versuche täglich bonitiert, später in halbwöchentlichem oder wöchentlichem Abstände.

Ergebnisse

Die Ergebnisse der zahlreichen Versuchsreihen sind mit den Daten der Versuchsanordnung in Tabelle 1 und 2 zusammengefaßt worden. Der Versuchserfolg wurde in diesen beiden Tabellen als Bruch wiedergegeben, wobei im Zähler die Zahl der mit Symptomen ansprechenden und im Nenner die

Tabelle 2
Versuchsdaten
für die Übertragungen mit *Passerinia fragaefolii* Cock.
Infektionsquelle: gesund aussehende Erdbeerpflanze der Sorte Madame Moutot

Nr.	Infektions- saugzeit	Zwischen- hungerzeit	Testsaugzeit	Übertragungs- ergebnis	Inkubations- zeit
1	1 Stunde		3 Tage	4/10	10 Tage
2	1 Stunde	2 Stunden	3 Tage	ohne Symptome	
3	1 Stunde	4 Stunden	3 Tage	1/10	15 Tage
4	24 Stunden		3 Tage	10/10	12 Tage
5	24 Stunden	9 Tage an <i>P. anserina</i>	3 Tage	ohne Symptome	
6	48 Stunden	2 Stunden	3 Tage	7/10	10 Tage
7	48 Stunden	4 Stunden	3 Tage	1/10	13 Tage
8	7 Tage		10 Tage	10/10	12 Tage

Reihenübertragungen:

9	15 Tage		1 Stunde	10/10	12 Tage
10	15 Tage		2 Stunden	4/10	14 Tage
11	15 Tage		3 Stunden	1/10	14 Tage
12	15 Tage		5 Stunden	ohne Symptome	
13	15 Tage		13 Stunden	ohne Symptome	
14	15 Tage		24 Stunden	ohne Symptome	
15	15 Tage		48 Stunden	ohne Symptome	
16	15 Tage		96 Stunden	ohne Symptome	

Zahl der verwendeten Pflanzen steht. Zum richtigen Verständnis dieser Ergebnisse ist es aber notwendig, nicht nur die Endsymptome zu beschreiben, sondern auch an Hand einiger typischer Beispiele den Symptombau über die Dauer der Beobachtungszeit mitzuverfolgen. Zwei verschiedene Hauptsymptome an *Fragaria vesca* ließen sich voneinander unterscheiden.

Das das erste Hauptsymptom hervorrufende Virus hat eine minimale Infektions- und Testsaugzeit von einer Stunde. Die Persistenzzeit im Vektor *Passerina fragaefolii* schwankt zwischen 3 und 5 Stunden je nach Länge der ISZ. Wurde das Viruseiweiß nicht durch eine Zwischenhungerzeit der Vektoren inaktiviert, so traten schon 10—15 Tage post infectionem (= p. i.) Erstsymptome auf. Im wesentlichen sind es Aufhellungen bis Gelbfärbungen des an die Adern erster bis dritter Ordnung angrenzenden, intercostalen Gewebes. In Blattrandnähe verschmelzen 22 Tage p. i. die 1—2 mm breiten, aufgehellten Gewebestreifen gelegentlich mit den benachbarten Streifen. Bereits in diesem Zustande kommt es zu Wachstumshemmungen im Gebiete des aufgehellten Gewebes, während das grüne Gewebe normal weiterwächst. Diese Wachstumsunterschiede führen dazu, daß das grüne Gewebe sich langsam emporwölbt. Die Blattoberfläche wird blasig. Vom ersten bis zum 24. Tage (p. i.) verändern sich die frischentfalteten Blätter in ihrer Form nicht, danach setzt als erste wesentliche Formänderung eine unregelmäßige Randzahnung ein. Diese ist um so ungewöhnlicher, je später die Blätter gebildet werden (Abb. 2).



Abb. 2. *Fragaria vesca*, rechts Blatt einer Kontrollpflanze, links viruskrankes Blatt

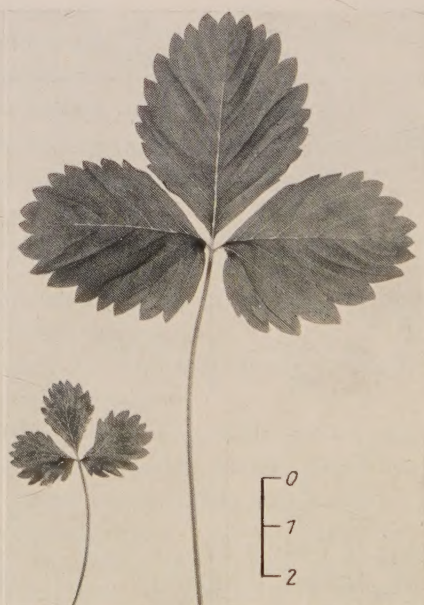


Abb. 3. Testpflanze *Fragaria vesca*, rechts Blatt einer Kontrollpflanze, links viruskrankes Blatt mit aufgehellten Adern

Folgende grundlegenden Veränderungen sind wahrzunehmen:

Die Randzahnung bleibt klein und unregelmäßig und kann sogar an manchen Blättern vollständig fehlen. Die Blätter sind linealisch (Abb. 2), asymmetrisch und klein und ihre Blattadern werden durchscheinend (28. Tag p. i.). Wie ein helles Netz vom dunklen Hintergrund, so heben sich die Blattadern vom übrigen grünen Gewebe ab (Abb. 3). Die zum gleichen Zeitpunkt erscheinenden 2 mm im Durchmesser großen, gelbgrünen Flecke verschwinden nach wenigen Tagen. Am 32. Tage p. i. ist der Höhepunkt der Pflanzen- und Blattmißbildung erreicht, danach verändern sich die Testpflanzen nicht mehr.

Den gleichen Symptomverlauf hatten die Versuche Nr. 1, 2, 4, 8, 9, 11 bis 13 der Tabelle 1 und die Versuche Nr. 1, 3, 4, 8, 9 bis 11 der Tabelle 2.

Der Zeitpunkt, an dem eine bestimmte Pflanzenveränderung auftritt, kann um 2—4 Tage bei den einzelnen Versuchen schwanken. Irgend eine Abhängigkeit von der Länge der ISZ oder TSZ ist dabei nicht zu erkennen.

Das das zweite Hauptsymptom hervorrufende Virus war nur in der verzweigten Madame-Moutot-Erdbeere enthalten. Es hat eine Inkubationszeit von 60 Tagen und eine Persistenzzeit von mehreren Tagen. Nur auf die sechste Blattlauspassage über die sechste Versuchspflanzenreihe (Versuch Nr. 16, Tab. 1) reagierten 3 Pflanzen mit Symptomen, die von den oben beschriebenen völlig verschieden sind. Verkümmerte Blätter ohne Randzahnung und mit verwachsenen Fiederblättern sind die Anfangssymptome. Auch die neugebildeten Blätter bleiben klein und unentwickelt. Sobald die älteren Blätter abgestorben sind, die am Ende der Inkubationszeit bereits voll ausgewachsen waren, verbleibt eine 1—2 cm hohe verzweigte Pflanze.

Besprechung der Ergebnisse

Unabhängig davon, ob die verzweigte oder die gesund aussehende Erdbeerpflanze der Sorte Madame Moutot als Infektionsquelle genommen wurde, sind die Endsymptome an den Testpflanzen bei fast allen Versuchen gleich. Da auch die Inkubationszeiten und die Persistenz im Vektor *Passerinia fragaefolii* weitgehend übereinstimmen, muß man annehmen, daß es sich um ein und dasselbe Virus handelt. Das Endsymptom an *Fragaria vesca* könnte man treffend mit „Adernchlorose“ charakterisieren. Adernaufhellungen und Verzweigungen sind von PRENTICE (1952) nach Befall mit dem Erdbeervirus 5 beobachtet worden. Das Virus, das unser erstes Hauptsymptom verursacht, unterscheidet sich aber von dem Erdbeervirus 5 durch die Länge der Inkubations- und Persistenzzeit. Beim Erdbeervirus 5 beträgt die Inkubationszeit 4—5 Wochen und die Persistenzzeit in *Passerinia fragaefolii* eine Stunde, das Virus des ersten Hauptsymptoms hat jedoch eine Inkubationszeit von 9—15 Tagen und eine Persistenzzeit in *Passerinia fragaefolii* von 3 bis 5 Stunden. Obgleich die minimale ISZ für beide Viren eine Stunde ist, kann man doch der wesentlich anderen Inkubations- und Persistenzzeit wegen eine Identität mit dem Erdbeervirus 5 für ziemlich ausgeschlossen halten.

Viel besser ist die Übereinstimmung der charakteristischen Daten von dem Virus des ersten Hauptsymptoms mit dem Erdbeervirus 1 nach PRENTICE (1949). Die Inkubationszeit hierfür ist 2—3 Wochen, die Persistenzzeit in *Passerinia fragaefolii* drei Stunden. Vergleicht man die Werte mit denen des Virus des ersten Hauptsymptoms, so kann man keine wesentlichen Unterschiede feststellen. Auch in der minimalen ISZ und TSZ besteht eine weitgehende Übereinstimmung. Neu für das Erdbeervirus 1 sind aber die Symptome, die unsere Testpflanzen zeigten. Im Symptombelauf auf *Fragaria vesca* gleichen sich die beiden Erscheinungen überhaupt nicht.

Auch POSNETTE (1952) findet nach der Übertragung von *Acyrtosiphon malvae* subsp. *rogersii* und *Myzus ascalonicus* Donc., die an yellow edge- oder crinkle-kranken Erdbeeren infiziert wurden, auf *Fragaria-vesca*-Symptome, die er „vein clearing“ nannte und die mit den Adernaufhellungen an unseren Testpflanzen übereinstimmen. Er hielt es für möglich, daß es sich um ein dem „mild crinkle“-Virus verwandtes Virus handelt, mit dem es die Länge der Persistenzzeit gemeinsam hat.

Im Symptombelauf besteht die beste Übereinstimmung zwischen dem ersten Hauptsymptom und dem „vein banding-virus“ nach FRAZIER (1955), dessen Inkubationszeit hauptsächlich 16 bis 19 Tage ist. Daß die „vein banding-Symptome“ verursachende Virus hat eine minimale ISZ von $1\frac{1}{2}$ Stunde und eine Persistenzzeit in *Passerinia fragaefolii* von 8 Stunden. Aus den vorangegangenen Beschreibungen ist ersichtlich, daß das Virus des ersten Hauptsymptoms trotz der etwas kürzeren Persistenzzeit mit dem „vein banding-virus“ verwandt ist, sicherlich aber auch mit dem Erdbeervirus 1 nach PRENTICE.

Zwischen den Erdbeerviren 2 bis 4 (nach PRENTICE) und den aus der Madame-Moutot-Erdbeere übertragenen bestehen keine Ähnlichkeiten.

Das zweite Hauptsymptom (Tab. 1, Versuch Nr. 16) stimmt mit der Beschreibung von SKILES und KING (1952) für Virus-stunt-krankte Erdbeerpflanzen überein.

Wie sich zeigte, enthielt auch die gesund aussehende Madame-Moutot-Erdbeerpflanze das dem „vein-banding-virus“ bzw. dem Erdbeervirus 1 sehr ähnliche Virus des ersten Hauptsymptoms. Sind die Umweltbedingungen für die gesunden Erdbeerpflanzen der Sorte Madame Moutot günstig, so ist eine Schädigung der Pflanzen durch das Virus des ersten Hauptsymptoms nicht wahrzunehmen. Genaue Messungen des Ernteergebnisses zeigen nach der Infektion doch einen geringen Rückgang. Tritt aber, wie im Fall der verzweigten Madame-Moutot-Pflanze noch ein zweites Virus hinzu, so kann es zu deutlich sichtbaren Schädigungen kommen. Für gewöhnlich sprechen die Kulturerdbeersorten auf eine Virusinfektion nicht so heftig an wie die Wilderdebeere *Fragaria vesca*. Übertragungen von einer verzweigten Madame Moutot durch *Passerinia fragaefolii* auf die Kulturerdbeersorte Regina können aber die gleichen Veränderungen hervorrufen, wie wir sie eingangs mit Adernaufhellungen charakterisiert hatten (Abb. 4).



Abb. 4. Erdbeersorte Regina, normales Blatt der Kontrollpflanze links, Blatt mit Adernaufhellungen einer virusinfizierten Pflanze rechts

Zusammenfassung

1. Während der Jahre 1953 bis 1955 verzweigten in einem Anbaugebiet ohne erkennbaren Grund zahlreiche Erdbeerpflanzen der Sorte Madame Moutot. Die kurzgestielten Blätter der betroffenen Pflanzen waren klein und verkräuselt. Im Blüten- und Fruchtsatz und in der Ausläuferbildung kam es zu starken Stockungen. Häufig endete der Wuchsrückgang mit dem Absterben der Pflanzen.
2. Zwei verschiedene Viren wurden in der verzweigten Erdbeerpflanze nachgewiesen.
3. Das Virus mit der minimalen ISZ und TSZ von einer Stunde, Persistenzzeit von 3 bis 5 Stunden und der Inkubationszeit von 9 bis 15 Tagen führt an der Testpflanze *Fragaria vesca* zu Adernaufhellungen der verzweigten, asymmetrischen Blätter mit unregelmäßiger Randzahnung. Ähnliche Veränderungen wurden nach der Virusinfektion an der Kulturerdbeersorte Regina beobachtet.
4. Das mehrere Tage im Vektor *Passerinia fragaefolii* persistierende Virus hat eine Inkubationszeit von 60 Tagen. Es ruft an *Fragaria vesca* Verzweigungserscheinungen hervor, die denen des „stunt virus“ ähneln.
5. Gemeinsame Merkmale mit bekannten Virosen werden an Hand von Literaturnachweisen aufgezeigt.

Literaturverzeichnis

- CARNUET, P., 1952: Sur l'extraction et l'inoculation par voie mécanique de certains virus affectant les fraisières. C. r. Acad. Sci. (Paris) **235**, 271—273.
- FRAZIER, N. W., 1955: Strawberry vein banding virus. Phytopathology **45**, 307—312.
- PLAKIDAS, A. G., 1928: Strawberry dwarf. Phytopathology **18**, 439—444.
- POSNETTE, A. F., 1952: New vectors of strawberry viruses. Nature (London) **169**, 837—838.
- PRENTICE, I. W., 1948: Resolution of strawberry virus complexes. II. Virus 2 (mild yellow-edge virus). Ann. appl. Biol. **35**, 279—289.
- —, 1949: Resolution of strawberry virus complexes. III. The isolation and some properties of virus 3. Ann. appl. Biol. **36**, 1—25.
- —, 1952: Resolution of strawberry virus complexes. V. Experiments with virus 4 and 5. Ann. appl. Biol. **39**, 487—499.
- —, and R. V. HARRIS, 1946: Resolution of strawberry virus complexes by means of the aphid vector *Capitophorus fragariae* Theob. Ann. appl. Biol. **33**, 50—53.
- RIVOIRE, P., 1931: La dégénérescence des Fraisiers. Rev. Gén. d'Horticult. **9**, 1485—1487.
- SKILES, R. L., and T. H. KING, 1952: Strawberry stunt virus in *Fragaria vesca*. Plant Dis. Rep. **36**, 406—407.

*Aus der Abteilung Landwirtschaftliche Botanik
am Institut für Phytopathologie der Karl-Marx-Universität Leipzig*

Direktor: Prof. Dr. E. Mühle

Untersuchungen über die Auswirkungen von Virusbefall auf den Alkaloidgehalt von *Datura stramonium* L. var. *stramonium*

Von

GOTTFRIED SCHUSTER

Mit einer Abbildung

Nach den Ergebnissen neuerer Untersuchungen erfolgt die Virusvermehrung in der Weise, daß die Virusproteide in die Synthesen der Wirtszelle steuernd eingreifen und dem in Bildung begriffenen Eiweiß des Wirtes ihre eigene Struktur aufzwingen. Diese Umsteuerung der Syntheseprozesse des Wirtes hat u. a. zahlreiche quantitative und qualitative Veränderungen der primären und sekundären Pflanzenstoffe zur Folge. Abgesehen von den Ergebnissen einer Anzahl von Untersuchungen über die unter dem Einfluß von Virusbefall erfolgenden Veränderungen verschiedener wirtschaftlich oder diagnostisch bedeutsamer primärer und sekundärer Pflanzenstoffe der Kartoffel und einiger weniger anderer Kulturpflanzen (Übersicht u. a. bei HENKE 1957, KÖHLER und KLINKOWSKI 1954) sind auf diesem Gebiete noch zahlreiche Fragen offen, deren Klärung nicht nur im Hinblick auf die Ermittlung des vollen Umfanges der Virusschäden von Bedeutung ist, sondern auch gewisse Aufschlüsse über die Art und Weise der Viruswirkung erwarten läßt.

In diesem Zusammenhang erscheint im Anschluß an die zahlreichen Untersuchungen über den N-Stoffwechsel blattrollkranker Kartoffelpflanzen (Übersicht u. a. bei HENKE 1956) die Frage nach den Veränderungen des Alkaloidgehaltes virusbefallener Pflanzen sehr bedeutungsvoll. Insbesondere kommt aus naheliegenden Gründen den Veränderungen des Alkaloidgehaltes virusbefallener Heilpflanzen besonderes Interesse zu. Soweit bekannt, liegen bisher allein die Befunde der Untersuchungen von SILBERSCHMIDT (1930) vor, nach denen der Nikotingehalt mosaikinfizierter Tabakblätter im Vergleich zu demjenigen gesunder Kontrollen im Durchschnitt um 40 % und in einzelnen Fällen sogar um 100 % erhöht ist. Diesen Ergebnissen zufolge dürfte die bei Virusbefall häufig eintretende Verringerung der Blattmasse durch die

Erhöhung des Alkaloidgehaltes weitgehend kompensiert werden, so daß von virusbefallenen Beständen etwa die gleichen Alkaloiderträge je Flächeneinheit zu erwarten sind wie von gesunden Beständen, ein Umstand, der für die Praxis des Arzneipflanzenbaues und der Arzneimittelerstellung nicht ohne Bedeutung ist, zumal sich die Aufarbeitung der Droge um so rationeller gestaltet, je höher deren Gehalt an Inhaltsstoffen ist. Daher erschienen Untersuchungen zur Klärung der Frage, ob bzw. inwieweit die von SILBERSCHMIDT an *Nicotiana tabacum* L. erhaltenen Ergebnisse auch für andere alkaloidführende Pflanzen zutreffen, sowie ergänzende qualitative Alkaloiduntersuchungen über evtl. auftretende Veränderungen im Verhältnis von Haupt- und Nebenalkaloiden von wesentlichem Interesse.

Die ersten Untersuchungen, über die nachfolgend berichtet wird, befaßten sich mit den Auswirkungen von Virusbefall auf den Alkaloidgehalt von *Datura stramonium* L. var. *stramonium*. Sie kamen im Hinblick auf die Abhängigkeit des Alkaloidgehaltes vom Entwicklungszustand der Pflanzen (JENTZSCH 1953) und von den Kulturbedingungen (BOSHART 1930, DAFERT und SIEGMUND 1932) sowohl an jungen, raschwüchsigen Pflanzen, wie sie von SILBERSCHMIDT vornehmlich zu den Untersuchungen herangezogen worden waren, als auch an älteren, unter verschiedenen Kulturbedingungen aufgewachsenen Pflanzen zur Durchführung.

Die Aussaat des Versuchsmaterials aller Serien erfolgte zur gleichen Zeit in Anzuchtkästen. Nach dem Auflaufen und Pikieren wurden die Anzuchtbedingungen variiert.

Die Pflanzen von Serie 1, die bereits im Jugendstadium den Alkaloiduntersuchungen zugeführt werden sollten, wurden im Frühbeet in Vegetationsschalen (Untersetzer von Mitscherlichgefäßen) von 24 cm Durchmesser und 6 cm Höhe angezogen. Jede Schale enthielt 2800 g luftgetrockneten Gartenboden und wurde dergestalt mit zehn Pflanzen besetzt, daß den einzelnen Pflanzen etwa das gleiche Bodenvolumen zur Verfügung stand. Der Wassergehalt des Bodens wurde durch tägliche ein- bzw. an heißen Tagen mehrmalige Wasserzufuhr unter Gewichtskontrolle stets auf 60 % der wasserfassenden Kraft gehalten.

Die Pflanzen von Serie 2 und 3, die während der Blüte bzw. im Nachblüte stadium untersucht werden sollten, wurden im Gewächshaus in Mitscherlichgefäßen von 20 cm Durchmesser und 19 cm Höhe in jeweils 5600 g luftgetrocknetem Gartenboden, dem 2,286 g NH_4NO_3 , 1,75 g $\text{CaH}_4(\text{PO}_4)_2$ und 1,5 g K_2O zugesetzt worden waren, bzw. im Freiland angezogen.

Von jeder Serie wurde die Hälfte der Pflanzen unter Verwendung eines Abrasivums (Karbonrumpder) mit dem Stamm H 19 des Kartoffel-X-Virus¹⁾ infiziert. Die Kontrollpflanzen wurden der gleichen Behandlung unterzogen, nur daß an Stelle des Inokulums Wasser Verwendung fand.

Bei Serie 1 erfolgte die Infektion im Vierblattstadium im Alter von sieben Wochen, bei Serie 2 und 3 bei Blühbeginn im Alter von 16 bzw. 20 Wochen.

Als der für die Untersuchungen vorgesehene Entwicklungszustand erreicht war und deutliche Befallssymptome auf den Blättern der infizierten Pflanzen sowie Wuchsdepressionen starke Eingriffe des Virus in den Stoffwechsel des Wirtes erkennen ließen — bei Serie 1 vier, bei Serie 2 zehn und bei Serie 3 acht Wochen nach der Infektion —, wurden die infizierten Pflanzen zusammen mit den nichtinfizierten Kontrollen morgens zwischen 8 und 9 Uhr dicht über dem Wurzelhals abgeschnitten, in Blattspalten, Blattstiele, Stengel und Blüten fraktioniert, zwecks Unterbindung unerwünschter Alkaloidumwandlungen 10 Minuten Temperaturen von 80 °C ausgesetzt und bei 55 °C bis zur Gewichtskonstanz

1) Herrn Regierungsrat Dr. BERCKS, Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Viroserologie, Braunschweig, sei auch an dieser Stelle nochmals für die Überlassung des Virusstammes unser verbindlichster Dank ausgesprochen.

getrocknet. Die Blattspreiten wurden unter sorgfältigem Mischen pulverisiert und in verschiedene — in der Regel drei — Parallelproben von 6 g aufgeteilt. Bei Serie 1 mußten infolge der geringen Pflanzengröße jeweils die Blätter aller Pflanzen eines Versuchsgliedes zu einer Probe zusammengefaßt werden.

Die Bestimmung des Gesamtalkaloidgehaltes erfolgte nach der Methode von PEYER und GSTIRNER (1931) in der Modifikation von EDER und RUCKSTUHL (1943), nachdem in Modellversuchen, bei denen Alkaloidmengen unterschiedlicher Größe auf Heu aufgebracht und in dem angegebenen Trennungsgang nachbestimmt worden waren, die erforderlichen Aufschlüsse hinsichtlich der Genauigkeit des Verfahrens erhalten worden waren. Diesen Untersuchungen zufolge kann das Ergebnis der Alkaloidbestimmung mit einem maximalen Fehler von 7 bis 8 % der vorgelegten Alkaloidmenge behaftet sein. Bei einem Gesamtalkaloidgehalt von beispielsweise 0,11 % muß somit mit einem Fehlerbereich von $\pm 0,009$ % gerechnet werden. Diesen Betrag übersteigende Differenzen dürften dagegen kaum auf methodischen Fehlern beruhen.

Die Trennung von Hyoscyamin und Scopolamin erfolgte nach der Rundfiltermethode (ROMEIKE 1952) auf Filterpapier Schleicher und Schüll 2043 a, wobei Teile der salzsauren Alkaloidlösung Verwendung fanden, die bei der Gesamtalkaloidbestimmung nicht für die Titration erforderlich waren. Diese wurden mit Ammoniak versetzt und dreimal mit 20 cm³ Chloroform ausgeschüttelt. Die Chloroformauszüge wurden vereinigt, das Chloroform abdestilliert und der verbleibende Rückstand entsprechend den Ergebnissen der Gesamtalkaloidbestimmung in soviel Chloroform aufgenommen, daß 1 cm³ des Lösungsmittels etwa 2 mg Alkaloide enthält. Von dieser Lösung wurden 0,03 cm³ (entsprechend 0,06 mg Alkaloiden) auf das Rundfilter aufgetragen. Jede Trennung wurde in zwanzigfacher Wiederholung ausgeführt¹⁾.

Die Ergebnisse der quantitativen Analysen des Gesamtalkaloidgehaltes sind in Tabelle 1 wiedergegeben. In dieser Aufstellung konnten alle Werte einer Serie zu einem Mittelwert zusammengefaßt werden, da sich die zwischen verschiedenen Pflanzen gleichen Gesundheitszustandes auftretenden Schwankungen des Alkaloidgehaltes in verhältnismäßig engen Grenzen halten.

Wie aus Tabelle 1 ersichtlich ist, übersteigt in Serie 1 und 2 der Gesamtalkaloidgehalt der virusinfizierten Pflanzen denjenigen der gesunden Pflanzen zum Teil beträchtlich. Die von SILBERSCHMIDT an gesunden und virusbefallenen Pflanzen von *Nicotiana tabacum* gewonnenen Ergebnisse treffen demnach unter gewissen Voraussetzungen auch für *Datura stramonium* L. var. *stramonium* zu. Bei Serie 3 wiesen dagegen die virusinfizierten Pflanzen einen wesentlich geringeren Alkaloidgehalt auf als die gesunden Kontrollen. Offenbar sind Richtung und Umfang der Veränderungen des Alkaloidgehaltes von verschiedenen Faktoren abhängig, von denen neben dem Alter der Pflanzen zum Zeitpunkt der Infektion und den Kulturmaßnahmen vor allem die Zeit zwischen Virusinfektion und Abbruch des Versuches von Bedeutung sein dürfte.

Um zu untersuchen, welchen Veränderungen der Alkaloidgehalt mit wachsendem Abstand zwischen Infektion und Alkaloiduntersuchung unterworfen ist, wurden im Verlauf der folgenden Vegetationsperiode in einem

¹⁾ Auch an dieser Stelle sei Herrn Prof. Dr. MOTHES und Fräulein Dr. ROMEIKE, Institut für Kulturpflanzenforschung der Deutschen Akademie der Wissenschaften, Gatersleben, und Herrn Dr. TRABERT, VEB Homöopharm Dr. Wilmar Schwabe, Leipzig, für die erteilten wertvollen Ratschläge zur Methodik der qualitativen und quantitativen Alkaloidanalyse nochmals verbindlichst gedankt. Fräulein B. RICHTER danke ich herzlich für treue Mitarbeit bei den Untersuchungen.

Tabelle 1

Der Gesamtalkaloidgehalt
gesunder und mit dem Kartoffel-X-Virus infizierter Pflanzen

Serie	Anzucht	Alter der Pflanzen zum Zeitpkt. der Inf. /Ernte Wochen		Durchschnittl. Pflanzenmasse in g/Pflz.		Mittl. Alkaloidgehalt in ‰ der Trockensubstanz $\pm \sigma_M$ ‰ ¹⁾		Differenz ‰ vir. — ‰ ges. $\pm \sigma_{Diff.}^{1)}$	relativer Alkaloidgehalt (gesund = 100)
				ge-sund	virus-infiz.	gesund	virus-infiziert		
1	Vegetations-schalen (Frühbeet)	7	11	4,58	1,35	0,258 ²⁾	0,873 ²⁾	+ 0,615 ²⁾	338,372
2	Mitscherlich-gefäße (Gewächshaus)	16	26	87,5	81	0,076 $\pm 0,0007$	0,119 $\pm 0,0085$	+ 0,043 $\pm 0,0085$	156,579
3	Freiland	20	28	986,67	435	0,156 $\pm 0,007$	0,119 $\pm 0,021$	— 0,037 $\pm 0,022$	76,282

1) Berechnung von M , σ_M und $\sigma_{Diff.}$ nach WEBER 1948.

2) Infolge geringer Blattmasse war nur jeweils eine Bestimmung möglich, für die das gesamte Blattmaterial von 30 Pflanzen im Sechsstadium herangezogen wurde.

Tabelle 2

Der Gesamtalkaloidgehalt
gesunder und mit dem Kartoffel-X-Virus infizierter Pflanzen
Infektion aller Serien am gleichen Tage. Staffe-lung der Zeiten zwischen Infektion und Ernte

Serie	Anzucht	Alter der Pflanzen zum Zeitpkt. der Inf. /Ernte Wochen		Durchschnittl. Pflanzenmasse in g/Pflz.		Mittl. Alkaloidgehalt in ‰ der Trockensubstanz $\pm \sigma_M$ ‰		Differenz ‰ vir. — ‰ ges. $\pm \sigma_{Diff.}$	relativer Alkaloidgehalt (gesund = 100)
				ge-sund	virus-infiz.	gesund	virus-infiziert		
1	Vegetations-schalen (Gewächshaus)	4	10	7,29	5,61	0,116 ¹⁾	0,147 ¹⁾	+ 0,031 ¹⁾	126,724
2	Mitscherlich-gefäße (Gewächshaus)	4	12	98,25	59,0	0,105 $\pm 0,004$	0,106 $\pm 0,006$	+ 0,001 $\pm 0,008$	100,952
3	Mitscherlich-gefäße (Gewächshaus)	4	14	183,61	87,71	0,123 $\pm 0,006$	0,092 $\pm 0,003$	— 0,031 $\pm 0,006$	74,797
4	Mitscherlich-gefäße (Gewächshaus)	4	16	182,91	110,02	0,101 $\pm 0,001$	0,090 $\pm 0,002$	— 0,011 $\pm 0,002$	89,109

1) Infolge geringer Blattmasse war nur jeweils eine Bestimmung möglich, für die das gesamte Blattmaterial von 30 Pflanzen im Sechsstadium herangezogen wurde.

weiteren Versuch alle Pflanzen zur gleichen Zeit infiziert und unter gleichen Kulturbedingungen in Mitscherlichgefäßen im Gewächshaus angezogen. Lediglich die Pflanzen der ersten Serie, die wiederum bereits im Jugendstadium untersucht werden sollten, wurden in Vegetationsschalen kultiviert. Die erste Versuchsserie wurde 6 Wochen nach der Infektion den Alkaloiduntersuchungen zugeführt. Drei weitere Serien folgten jeweils im Abstand von 2 Wochen. Alle übrigen Faktoren der Versuchsanordnung, wie Anzuchtgefäße, Boden, Düngung, Wasserzufuhr, Behandlung des Erntegutes und Methoden der Alkaloidanalysen, entsprachen denjenigen der ersten Versuchsreihe. Die Ergebnisse der zweiten Versuchsreihe sind in Tabelle 2 dargestellt.

Sie lassen erkennen, daß Ausmaß und Richtung der durch Virusbefall hervorgerufenen Veränderungen des Alkaloidgehaltes bei gleichen Anzuchtbedingungen in beträchtlichem Maße von der Zeit zwischen Infektion und Alkaloiduntersuchung abhängig sind. Sechs Wochen nach der Infektion wiesen die infizierten Pflanzen im Vergleich zu den gesunden Kontrollen einen höheren Alkaloidgehalt auf. Bereits acht Wochen nach der Infektion war der Alkaloidgehalt der virusbefallenen Pflanzen jedoch nur noch etwa ebenso groß wie derjenige der Kontrollen, und bei späteren Untersuchungen lag der Alkaloidgehalt virusinfizierter Pflanzen unter demjenigen der gesunden Vergleichspflanzen.

Diesem Ergebnis kommt vor allem im Hinblick auf die Praxis des Arzneipflanzenbaues Interesse zu, folgt doch hieraus, daß frühzeitige Virusinfektionen eine wesentliche Verminderung des Alkaloidgehaltes des Erntegutes bedingen. Neben der bekannten quantitativen, auch in den vorliegenden Untersuchungen aufgetretenen und in Tabelle 1 und 2 durch Wiedergabe des durchschnittlichen Pflanzengewichtes gesunder und virusinfizierter Pflanzen zum Ausdruck gebrachten Verringerung des Erntegutes geht also bei Virusbefall auch eine qualitative Verschlechterung einher, ein Umstand, der uns infolge seiner beträchtlichen wirtschaftlichen Bedeutung Veranlassung gegeben hat, an weiteren *Datura*-Arten und -Varietäten sowie an *Hyoscyamus niger* L. ähnliche Untersuchungen durchführen zu lassen (vgl. SCHUMANN 1957).

Aber nicht allein durch Verringerung des Gesamtalkaloidgehaltes erfährt das Erntegut bei Virusbefall eine qualitative Verschlechterung. Den Ergebnissen der papierchromatographischen Untersuchungen zufolge wird vielmehr bei längerem Virusbefall häufig auch das Verhältnis von Scopolamin zu Hyoscyamin zugunsten des in vieler Hinsicht pharmazeutisch weniger wertvollen Hyoscyamins verschoben.

Wie aus der Abbildung, in der von jedem Versuchsglied der zweiten Versuchsreihe ein Sektor eines typischen Chromatogramms wiedergegeben wurde, zu ersehen ist, ließen die Chromatogramme jüngerer Pflanzen in Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Untersuchungen von JENTZSCH (1953) an der Intensität des inneren Alkaloidringes Scopolamin als Hauptalkaloid erkennen, wobei gleichgültig war, ob es sich um virusinfizierte Proben oder um Kontrollproben handelte. Bei älteren Pflanzen überstieg dagegen der

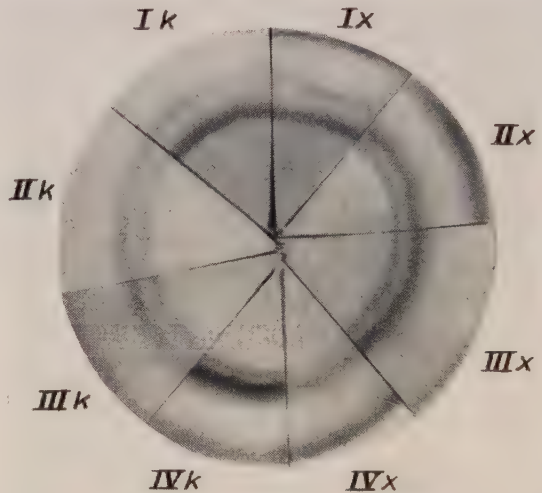
Anteil des im Chromatogramm als äußerer Ring erscheinenden Hyoscyamins denjenigen des Scopolamins. Hierbei erwies sich für infizierte Pflanzen der Scopolamingehalt vielfach noch weiter zugunsten des Hyoscyamingehaltes verringert als bei nicht infizierten Kontrollen, wenn zwischen Infektion und Untersuchung längere Zeit verstrichen war.

Diese Erhöhung des Anteils des im Vergleich zu Scopolamin stärker reduzierten Hyoscyamins verdient gewisses Interesse im Hinblick auf Untersuchungen von HEY (1932), WARTENBERG, HEY (1936 a, 1936 b) und WARTEN-

Chromatogramme von gesunden und virusinfizierten Pflanzen bei Staffellung der Zeiten zwischen Infektion und Ernte.

Von jedem Versuchsglied ist ein Sektor eines typischen Chromatogramms wiedergegeben.

Innerer Ring: Scopolamin, äußerer Ring: Hyoscyamin. K = Kontrolle, x = Infektion mit dem Kartoffel-X-Virus. Zeit zwischen Infektion und Ernte: I = 6; II = 8; III = 10; IV = 12 Wochen



BERG, HEY und URHAN (1935), in deren Verlauf in Preßsäften virusbefallener Kartoffelknollen eine Verlagerung des Redoxpotentials nach negativeren Werten festgestellt worden war. Möglicherweise stellt die Förderung reduzierender Prozesse eine allgemeine Folge des Eingriffes der Viren in den Stoffwechsel der Wirtspflanzen dar. Infolge des halbquantitativen Charakters der Rundfiltermethode erscheint es jedoch erforderlich, die angeführten Ergebnisse und Überlegungen durch weitere Untersuchungen mittels genauerer Verfahren zu bestätigen.

Besonderes Interesse kommt schließlich der Frage zu, worauf die in virusinfizierten Pflanzen festgestellten Veränderungen des Alkaloidgehaltes zurückzuführen sind, die mit wachsendem zeitlichem Abstand von der Infektion bestimmten Wandlungen unterliegen. In diesem Zusammenhange ist die Beobachtung bedeutungsvoll, daß vor allem bei jüngeren Pflanzen der Sproß durch Virusbefall offenbar zunächst stärker geschädigt wird als die Wurzel. Die Wuchsdepressionen des Sprosses eilen in der ersten Zeit nach der Infektion merklich den Wuchsdepressionen der Wurzel voraus, ein Umstand, der im Hinblick auf die insbesondere an virusbefallenen Kartoffelpflanzen festgestellte Verringerung des Gehaltes an aktivem Wuchsstoff (u. a. SÖDING

1942, SÖDING, KÖHLER und FUNKE 1944) und die bekannte unterschiedliche Wuchsstoffempfindlichkeit von Sproß und Wurzel (u. a. von GUTTENBERG 1955) erklärt werden könnte. Da die Alkaloidbildung ähnlich wie bei den meisten *Nicotiana*-Arten und vielen anderen Pflanzen auch bei *Datura*-Arten vornehmlich in der Wurzel erfolgt (MOTHES und HIEKE 1943, STIENSTRA 1954, ROMEIKE 1955), muß also — unveränderte Alkaloidbildung in der Wurzel vorausgesetzt — die durch Wuchsdepressionen verringerte Blattmasse virusinfizierter Pflanzen etwa die gleiche, von dem im Vergleich zu nicht infizierten Kontrollen vorerst kaum verringerten Wurzelsystem gebildete Alkaloidmenge aufnehmen wie die wesentlich größere Blattmasse nicht infizierter Kontrollen, so daß es zu einer anfänglichen Erhöhung der Alkaloidkonzentration des Blattes kommt.

Neben dieser Veränderung des Verhältnisses von Wurzelmasse zu Blattmasse dürfte darüber hinaus auch die in weiteren Untersuchungen bei virusinfizierten Pflanzen im Vergleich zu nicht infizierten Kontrollen ermittelte starke Erhöhung der auf die Oberflächeneinheit bezogenen Transpiration, die in der Regel 3 bis 4 Wochen nach einer Infektion die höchsten Werte annimmt und im wesentlichen als Folge der auftretenden Nekrosen und anderweitigen Blattschäden zu deuten ist (SCHUSTER 1957), zu der anfänglichen Steigerung des Alkaloidgehaltes virusinfizierter Pflanzen beitragen, wird doch jetzt ganz allgemein angenommen, daß die Ansammlung von Alkaloiden in den Blättern im weiteren Sinne eine Funktion des Transpirationsstromes darstellt (PAECH 1950).

Somit ist wahrscheinlich, daß die anfängliche Erhöhung des Alkaloidgehaltes virusinfizierter Pflanzen lediglich eine mittelbare Viruswirkung darstellt, die als Folge verschiedener, durch Virusbefall hervorgerufener Veränderungen sekundär in Erscheinung tritt.

Neben diesen mittelbaren Eingriffen in den Alkaloidhaushalt hat Virusbefall aber offenbar auch gewisse unmittelbare Eingriffe zur Folge. Allem Anschein nach werden Umsetzungen gefördert, die den Abbau der Alkaloide, wie er auch in gesunden Pflanzen vielfach nach Blühbeginn einsetzt, verstärken und einige Zeit nach der Infektion zunächst zu einer Angleichung des Alkaloidgehaltes der infizierten Pflanzen an denjenigen der gesunden Kontrollen und späterhin zu einer beträchtlichen Verringerung führen. Daneben ist aber auch zu erwägen, ob nicht allein die einige Zeit nach der Infektion auch im Wurzelsystem auftretenden Schäden den Umfang der Alkaloidsynthese derartig verringern können, daß der ganz allgemein nach Blühbeginn einsetzende Alkaloidrückgang sich in besonders starkem Maße auswirkt. Ferner muß berücksichtigt werden, daß die Pflanzen mit Vergrößerung der Zeitdauer zwischen Infektion und Alkaloiduntersuchung auch der Vollendung ihres Entwicklungszyklus entgegengehen und gewisse Veränderungen ihres physiologischen Zustandes aufweisen dürften. Dies wiederum kann Veränderungen in den Beziehungen zwischen Virus und Wirt zur Folge haben, durch die andere Umsetzungen begünstigt werden als unmittel-

bar nach der Infektion. Diese Verhältnisse, insbesondere die Beziehungen zwischen dem Alter der Pflanzen zur Zeit der Infektion und den Veränderungen des Alkaloidgehaltes müssen daher Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.

Zusammenfassung

Infektionen mit dem Kartoffel-X-Virus haben sowohl quantitative als auch qualitative Veränderungen des Alkaloidgehaltes von *Datura stramonium* var. *stramonium* zur Folge. Werden junge Pflanzen infiziert, so erfolgt zunächst im Vergleich zu gesunden Kontrollen gleichen Alters eine Zunahme des Alkaloidgehaltes, bezogen auf das Trockengewicht. Mit wachsendem Abstand von der Infektion gleicht sich der Alkaloidgehalt virusinfizierter Pflanzen jedoch demjenigen der gesunden Kontrollen an, um späterhin z. T. beträchtlich unter diesen abzusinken. Gleichzeitig ist bei virusinfizierten Pflanzen im Vergleich zu gleichaltrigen, nicht infizierten Kontrollen der Anteil des Scopolamins an der Gesamtalkaloidkonzentration vielfach etwas verringert. Die erhaltenen Ergebnisse lassen erkennen, daß frühzeitige Virusinfektionen neben einer beträchtlichen quantitativen auch eine beachtliche qualitative Verringerung des Erntegutes zur Folge haben, ein Umstand, der im Hinblick auf den Heilpflanzenanbau Beachtung verdient. Möglichkeiten zur Klärung der Ursachen der bei virusinfizierten Pflanzen im Vergleich zu den gesunden Kontrollen auf die anfängliche Steigerung des Alkaloidgehaltes folgenden Alkaloidabnahme werden erörtert.

Summary

Infections with the potato-X-virus have brought about quantitative as well as qualitative changes in the alkaloid contents of *Datura stramonium* var. *stramonium*. When young plants are infected there results at first an increase of alkaloid contents being compared with controls of healthy plants of the same age, relating to dry weight. With increasing intervals from the infection, however, the alkaloid contents of the virus infected plants resemble those of the healthy controls, only to sink considerably below them later on. At the same time the proportion of scopolamine in the entire alkaloid concentration is often somewhat diminished compared with non-infected controls of the same age. Results obtained show that early virus infections besides causing considerable reduction in quantity also bring about inferior qualities in the crops, a circumstance which must be taken into consideration when cultivating officinal plants. Possibilities of accounting for the causes of this diminished alkaloid following the increase of alkaloid content at the beginning in virus infected plants when compared with controls of healthy plants are discussed.

Literaturverzeichnis

- * BOSHART, K., 1930: Kulturversuche mit Stechapfel und Tollkirsche, mit besonderer Berücksichtigung der Schwankungen des Alkaloidgehaltes. Heil- u. Gewürzpflanzen 13, 97.
- * DAFERT, O., und O. SIEGMUND, 1932: Düngungsversuche mit *Datura stramonium* L. und *Hyoscyamus niger* L. Heil- u. Gewürzpflanzen 14, 98—104.
- EDER, R., und O. RUCKSTUHL, 1943: Über die Bestimmung der Gesamtalkaloide und von Hyoscyamin in *Folium Belladonnae*. Pharm. Acta Helv. 18, 605—636.
- GUTTENBERG, H. VON, 1955: Lehrbuch der allgemeinen Botanik. Berlin.
- HENKE, O., 1956: Beitrag zum N-Stoffwechsel blattrollkranker Kartoffelpflanzen. Zbl. Bakt., II. Abt., 109, 367—388.
- —, 1957: Untersuchungen über den Stoffwechsel blattrollkranker Kartoffelpflanzen. Zbl. Bakt., II. Abt., 110, 361—377.
- HEY, A., 1932: Zur Biologie der Kartoffel. 14. Mitt. Die Diagnose des Abbaugrades von Kartoffelknollen durch elektrometrische Messung. Arb. Biol. Reichsanst. 20, 79—90.
- JENTZSCH, K., 1953: Beitrag zur Kenntnis der Alkaloidbildung in Solanaceen. Sci. pharmac. 21, 285—291.
- KÖHLER, E., und M. KLINKOWSKI, 1954: Viruskrankheiten in SORAUER: Handb. Pflanzenkrankh. Bd. 2, 1. Lfg. Berlin und Hamburg.
- MOTHES, K., und K. HIEKE, 1943: Die Tabakwurzel als Bildungsstätte des Nikotins. Naturwissenschaften 31, 17—18.
- PAECH, K., 1950: Biochemie und Physiologie der sekundären Pflanzenstoffe. Berlin — Göttingen — Heidelberg.
- PEYER, W., und F. GSTIRNER, 1931: Eine Vereinfachung der FROMMESchen Alkaloidbestimmung in Solanaceendrogen und *Folia Coca* und die Bestimmung der Alkaloide in *Herba Ephedrae*. Pharmaz. Ztg. 76, 1440—1442.
- ROMEIKE, A., 1952: Beitrag zur papierchromatographischen Trennung von Alkaloiden. Pharmazie 7, 496—497.
- —, 1955: Über die Mitwirkung des Sprosses bei der Ausbildung des Alkaloidspektrums. Epoxydbildung beim Hyoscyamin durch *Datura ferox* L. Flora 143, 67—86.
- SÖDING, H., 1942: Über den Wuchsstoffhaushalt abbaukranker Kartoffeln. Angew. Bot. 24, 114—117.
- —, E. KÖHLER und H. FUNKE, 1944: Über den Wuchsstoffgehalt abbaukranker Kartoffelknollen. Phytopath. Z. 14, 427—441.
- SCHUMANN, K., 1957: Untersuchungen über den Alkaloidgehalt virusinfizierter *Datura*-Pflanzen. Pharmazie 12, 524—528.
- SCHUSTER, G., 1957: Untersuchungen über die Möglichkeiten zum Nachweis von Pflanzenkrankheiten mit Hilfe der Anwelkmethode. 2. Mitt.: Das Transpirationsverhalten virusinfizierter Pflanzen der Gattungen *Nicotiana*, *Datura* und *Hyoscyamus*. Nachr.-Blatt Dt. Pflanzenschutzd. (Berlin) N. F., im Druck.
- SILBERSCHMIDT, K., 1930: Der Einfluß der Mosaikkrankheit auf den Nikotingehalt der Tabakpflanze. Ber. Dtsch. Bot. Ges. 48, 122—129.

- * STIENSTRA, T. M., 1954: Formation of mydriatic alkaloids in excised root cultures of *Datura stramonium*, grown on a completely synthetic nutrient. Proc. Kon. Ned. Akad. v. Wetensch., Ser. C, **57**, 584—593.
- WARTENBERG, H., und A. HEY, 1936 a: Die elektrometrische Pflanzgutwertbestimmung der Kartoffelknolle. III. Mitt. Das Redoxpotential des Gewebebreies der Kartoffelknolle. *Planta* **25**, 258—281.
- —, und — —, 1936 b: Die elektrometrische Pflanzgutwertbestimmung der Kartoffelknolle. IV. Mitt. Das Redoxpotential der Gewebebreiaufschlammung der Kartoffelknolle als Kennziffer des Abbaues. *Phytopath. Z.* **9**, 531—569.
- —, — — und O. URHAN, 1935: Die elektrometrische Pflanzgutwertbestimmung der Kartoffelknolle. I. Mitt. *Arb. Biol. Reichsanst.* **21**, 331—362.
- WEBER, E., 1948: *Grundriß der Biologischen Statistik*. Jena.

Die mit * bezeichneten Arbeiten waren nur im Referat zugänglich.

*Aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft,
Institut für Virusserologie, Braunschweig, und Außenstelle Elsdorf
des Instituts für Hackfruchtbau*

**Serologische Untersuchungen
zur Infektion von *Beta*-Rüben mit dem Vergilbungsvirus
(*Beta Virus 4*) durch *Myzodes persicae* Sulz.
und *Doralis fabae* Scop.¹⁾**

Von

R. BERCKS, H. BURGHARDT und W. STEUDEL

Es ist eine aus zahlreichen Arbeiten (WATSON, 1946, HEINZE, 1949, HARTSUIJKER, 1951, BJÖRLING, 1952, STEUDEL und HEILING, 1954, u. a.) bekannte Tatsache, daß bei Infektionsversuchen mit einer sehr unterschiedlichen Übertragungsfähigkeit der einzelnen Vektorarten für das Vergilbungsvirus der *Beta*-Rüben gerechnet werden muß. So überträgt unter gleichen Bedingungen die grüne Pfirsichblattlaus *Myzodes persicae* Sulz. (*M. p.*) das Virus zu wesentlich höheren Prozentsätzen als die schwarze Rüben- oder Bohnenlaus *Doralis fabae* Scop. (*D. f.*). Insbesondere HARTSUIJKER (1951) weist darauf hin, daß auch bei gelungener Infektion mit *D. f.* in seinen Experimenten die Inkubationszeit länger war als bei zu gleicher Zeit durch den Überträger *M. p.* infizierten Pflanzen. Gleichsinnige Unterschiede stellten sich auch bei vieljährigen Feld-Infektionsversuchen von STEUDEL und HEILING (1954) heraus. Eine befriedigende Erklärung für diese Erscheinung konnte bisher nicht gegeben werden. Als Ursache wäre denkbar, daß die verschiedenen Aphiden das Virus mit dem Pflanzensaft in unterschiedlichen Mengen aufnehmen oder weitergeben oder daß es in einzelnen Vektorarten eine Änderung seiner Aggressivität erleidet. Bei dieser Annahme ließe sich der geringe Infektionserfolg auch zwanglos dadurch erklären, daß der für eine sichere systemische Infektion mit Yellow-*s*-Virus erforderliche Schwellenwert durch *D. f.* häufig nicht erreicht wird. Die Feststellung von Unterschieden im Virusgehalt der Blätter von *M. p.*- und *D. f.*-infizierten Rüben zu bestimmten Zeitpunkten würde eine Bestätigung dieser Hypothese bedeuten. Es wurden des-

¹⁾ Die Arbeit wurde mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft ausgeführt.

halb zur Untersuchung dieser Fragestellung die Blätter einer größeren Anzahl von Rübenpflanzen, die durch *M. p.* bzw. *D. f.* mit Yellow-*s*-Virus infiziert worden waren, serologisch auf ihren Virusgehalt überprüft.²⁾

Wie u. a. HARTSUIJKER (1951), WATSON (1952) und SEDLAG (1954) festgestellt haben, sind die verschiedensten äußeren Faktoren in der Lage, den Infektionserfolg der Einzelversuche erheblich zu beeinflussen. Um bei der Gesamtbeurteilung solche Wirkungen weitgehend ausschalten zu können, wurden die Untersuchungen in verschiedenen Jahren und zu verschiedenen Jahreszeiten viermal wiederholt. Durchschnittlich 20 Tage nach der Aussaat wurden die pikierten Rübenpflanzen (Sorte Kleinwanzlebener E, Familie 9819) unter Glasröhrchen für 48 Stunden mit je 8 bis 10 *M. p.* bzw. 16 bis 20 *D. f.* von ein und derselben Infektionsquelle besetzt, die vor der Besiedelung mit den gesunden Läusen geteilt worden war. Als Kontrollen dienten nichtinfizierte Pflanzen der gleichen Aussaat. Die Benutzung einer doppelt so großen Anzahl von *D. f.* wie von *M. p.* geht auf die Erfahrung zurück, daß zur Erzielung eines gleichen Infektionserfolges wesentlich mehr Exemplare von *D. f.* als von *M. p.* erforderlich sind (HEINZE, 1949). Die Zahl der pro Versuch mit jeder Läuseart infizierten Pflanzen betrug durchschnittlich 70. Die erste serologische Untersuchung der Blätter fand im Mittel 30 Tage nach der Infektion statt, und zwar wurden jeweils die ältesten, noch nicht im Absterben begriffenen Blätter, d. h. die Primärblätter oder das erste Folgeblattpaar der Rübenpflanze, benutzt, da sich diese bereits bei anderen Untersuchungen wegen ihres hohen Virusgehaltes für derartige Nachweise am meisten geeignet erwiesen hatten. Bezüglich der serologischen Methodik kann auf die Arbeit von BERCKS und ZIMMER (1956 a), bezüglich der Sicherheit des Nachweises auf die Untersuchungen von BERCKS und ZIMMER (1956 b) sowie von BURGHARDT und BRANDES (1957) verwiesen werden.

Nach der oben gemachten Annahme würden verschiedene Vektoren verschieden lange Inkubationszeiten bis zur einwandfreien Nachweismöglichkeit des Virus bedingen. Der erste Versuch des Jahres 1954 bestätigte zunächst diese Auffassung. Während nämlich *M. p.*-infizierte Pflanzen 28 Tage nach ihrer Infektion zu 95 % erkrankt waren, reagierten zum gleichen Zeitpunkt nur 31 % der *D. f.*-infizierten Pflanzen gegen Yellow-*s*-Antiserum positiv. Nach 69 Tagen waren aber 79 % und nach 104 Tagen sämtliche *D. f.*-infizierten Pflanzen krank. Die Möglichkeit einer unbeabsichtigten Neu-Infektion der *D. f.*-Pflanzen scheidet aus, da dieser wie auch alle weiteren Versuche im läusesicheren und zusätzlich mit Insektiziden beräucherten Gewächshaus durchgeführt wurden. In diesem ersten Versuche hatten sich auch Unterschiede im Auftreten von Vergilbungssymptomen feststellen lassen: Typische Adernaufhellungen konnten an den Primär- bzw. Folgeblättern zum Prüfungszeitpunkt nur an den *M. p.*-infizierten Pflanzen beobachtet werden. In den anderen Versuchen aber entsprach das Auftreten von Vergilbungssymptomen unabhängig von der *M. p.*- oder *D. f.*-Infektion im wesentlichen den Ergebnissen des serologischen Nachweises der Krankheit. Lediglich der Herbstver-

²⁾ An einem Teil der Untersuchungen war Herr Dr. K. ZIMMER beteiligt, dem wir für seine Mitarbeit vielmals danken.

such des Jahres 1955 (s. Tab. 1, Nr. 3) ließ sich in dieser Hinsicht nicht auswerten, da nach 90 Tagen keine *D. f.*-Infektion mehr nachweisbar war. Der Grund ist wahrscheinlich in der Tatsache zu sehen, daß das Virus nicht gleichmäßig innerhalb sämtlicher Blätter einer Pflanze verteilt ist. Das kann in Einzelfällen dazu führen, daß eine Pflanze auf Grund der verschiedenen serologischen Reaktionen verschiedener Blätter einmal als positiv und einmal als negativ betrachtet wird. Wie die Ergebnisse von Versuch 2 in Tabelle 1 zeigen, kamen entsprechende, kleinere Versuchsfehler ebenso bei *M. p.*-infizierten Pflanzen vor. Es wurden zwar wegen der Sicherheit des Nachweises keine ausgesprochenen Frühdiagnosen gestellt — über eine derartige Möglichkeit soll von BERCKS und BURGHARDT gesondert berichtet werden —, die hier gemachten symptomatologischen Beobachtungen genügen aber bereits für die Feststellung, daß mit Ausnahme des ersten Versuches keine gesicherten Unterschiede in den Inkubationszeiten zwischen *M. p.*- und *D. f.*-Übertragung des Virus vorlagen.

Ebenso wiesen die aus der serologischen Prüfung sich ergebenden Infektionserfolge bei *M. p.*- bzw. *D. f.*-Übertragung (Tab. 1) eine Verzögerung der Virusvermehrung nach *D. f.*-Infektion nur in Versuch 1 aus. Das Ergebnis der Versuche 2 bis 5 entspricht dagegen den Angaben von BJÖRLING (1952), der Inkubationszeiten von 18 bis 31 Tagen für *M. p.*- und 19 bis 31 für *D. f.*-übertragenes Virus angibt, und von SEDLAG (1953), der für *D. f.*-gegenüber der *M. p.*-Übertragung auch nur eine Differenz der Inkubationszeiten von 3,5 Tagen nennt. Wir beobachteten in diesen Versuchen lediglich geringere Infektionsergebnisse durch *D. f.*, während in der Virusvermehrung keine Verzögerung nach *D. f.*-Infektion mehr auftrat. Die Infektionen mit beiden Vektorarten waren ohne Unterschied serologisch faßbar. Sofern überhaupt zwischen den Prüfungsterminen von durchschnittlich 30 und 90 Tagen nach der Infektion noch Veränderungen des Infektionserfolges festgestellt werden konnten, betrafen sie im allgemeinen beide Infektionsarten gleichmäßig, wie das besonders aus den Angaben über Versuch 4 hervorgeht.

Tabelle 1
Infektionserfolge in Prozent

Tage nach der Infektion	1		2		3		4		5	
	Herbst 1954		Frühjahr 1955		Herbst 1955		Frühjahr 1956		Frühjahr 1957	
	<i>M. p.</i>	<i>D. f.</i>	<i>M. p.</i>	<i>D. f.</i>	<i>M. p.</i>	<i>D. f.</i>	<i>M. p.</i>	<i>D. f.</i>	<i>M. p.</i>	<i>D. f.</i>
30	95	31	66	6	100	6	43	5	97	21
90	—	100	56	6	100	0	57	13	97	24

Über die weiteren bei den serologischen Untersuchungen erhaltenen Befunde unterrichtet Tabelle 2, in der sich Angaben über die Stärke der Reaktion und den Safttiter befinden. Es wird hier lediglich ein Durchschnittswert für den ganzen jeweiligen Versuch mitgeteilt, da die Einzelergebnisse zu den

verschiedenen Prüfungsterminen nicht nennenswert voneinander abweichen. Dabei ist unter „Stärke der Reaktion“ der nach einem Bonitierungsschema von 0 bis 4 bewertete Präzipitationsgrad und unter dem „Safttiter“ der Endpunkt der serologischen Reaktion bei Saftverdünnung verstanden. Aus dieser Tabelle ist die gleichbleibende Tendenz zu entnehmen, daß *D. f.*-infizierte Pflanzen verminderte Werte gegenüber den *M. p.*-infizierten zeigen. So betrugen im Gesamt-Durchschnitt aller Versuche, d. h. von je 5 \times 70 bzw. 3 \times 70 Einzelreaktionen, die Werte für die Stärke der Reaktion 3,2 bei *M. p.*- und 2,5 bei *D. f.*-Übertragung, für den Safttiter 1 : 11,3 (*M. p.*) und 1 : 8,3 (*D. f.*). Diese Versuche wurden, wie oben erwähnt, absichtlich nicht unter völlig identischen äußeren Bedingungen angestellt und enthalten demzufolge zweifellos einige unkontrollierbare Fehlerquellen. So legen besonders die Unterschiede zwischen den Versuchen 1 und 2—5 in Tabelle 1 nahe, die Bedeutung eines Vergleichs der fünf Versuchsreihen nicht zu überschätzen. Aus diesen Gründen haben wir auch auf eine statistische Sicherung der Differenzen zwischen *M. p.*- und *D. f.*-Infektionen verzichtet.

Tabelle 2
Stärke der serologischen Reaktion und Safttiter
(Maßeinheiten im Text)

	1		2		3		4		5	
	Herbst 1954		Frühjahr 1955		Herbst 1955		Frühjahr 1956		Frühjahr 1957	
	<i>M. p.</i>	<i>D. f.</i>	<i>M. p.</i>	<i>D. f.</i>	<i>M. p.</i>	<i>D. f.</i>	<i>M. p.</i>	<i>D. f.</i>	<i>M. p.</i>	<i>D. f.</i>
Stärke	3,8	3,1	3,6	3,6	3,3	1,6	2,2	1,6	2,9	2,4
Titer	1:12	1:11	1:16	1:11	—	—	—	—	1:6	1:3

Festzuhalten bleibt die auch aus anderen Arbeiten bekannte Tatsache, daß die Infektionserfolge im Durchschnitt von fünf Versuchen eine beachtliche Differenz zwischen *M. p.*- und *D. f.*-Übertragung aufwiesen: 80 % mit *M. p.* gegenüber 14 % mit *D. f.*, d. h. mit *D. f.* wurden nur 17 % des *M. p.*-Übertragungserfolges erreicht, ein Wert, der mit den von WATSON (1946) in entsprechenden Versuchen erzielten 19,5 % nahezu übereinstimmt. Diesbezügliche, von anderen Autoren angegebene Werte betragen 79 % Infektionserfolg mit *M. p.* gegen 13 % mit *D. f.* (HARTSUIJKER, 1951), 88,8 % (*M. p.*) gegen 31,3 % (*D. f.*) (SEDLAG, 1953), bzw. 39—93 % (*M. p.*) und 11—50 % (*D. f.*) (BJÖRLING, 1952), wobei die Schwankungen in Abhängigkeit von der Läusezahl zu verstehen sind. BAWDEN (1955) erhielt bei Verwendung von drei Läusen je Pflanze Infektionserfolge von 100 % (*M. p.*) bzw. 26 % (*D. f.*).

Bei der von uns gewählten Versuchsanordnung entfallen Gesichtspunkte, wie die geringere Beweglichkeit von *D. f.* (HEINZE, 1949) oder die Vorliebe der einzelnen Blattlausarten für unterschiedliche Pflanzen- bzw. Blattbezirke mit ihren verschiedenen Virusgehalten (KENNEDY, IBBOTSON und BOOTH, 1950) als Gründe für eine unterschiedliche Übertragung. Unter Freilandbe-

dingungen können sie dagegen eine Erklärung dafür abgeben, daß trotz größerer Absolutzahlen von *D. f.* weniger Virus aufgenommen und übertragen wird als von *M. p.* Ob auch anatomische Unterschiede der Läusearten für die Einstichtiefe des Saugrüssels und damit die Fähigkeit, das Phloem beim Saugen zu erreichen, Bedeutung haben, kann hier nicht entschieden werden. Möglicherweise kommen eher Unterschiede in der Physiologie der Vektoren in Betracht. So kann z. B. die artspezifische Zusammensetzung des Speichels der Blattläuse, die nach HEINZE (1957) als gesichert angesehen werden darf, die Haltbarkeit des Virus maßgeblich beeinflussen. Die Tatsache, daß in Gewächshausversuchen geflügelte Läuse weniger gut übertragen als ungeflügelte (BJÖRLING, 1952), spielt unter unseren Versuchsbedingungen keine Rolle, da nur ungeflügelte Virgines für die Versuche benutzt wurden.

Folgende Ergebnisse der Untersuchungen über die Ursachen des bei *D. f.*-Übertragung festgestellten geringeren Infektionserfolges können zusammengefaßt werden: Trotz der angegebenen Unterschiede zwischen den Infektionen mit beiden Blattlausarten, die u. U. auch für den Schädigungsgrad von Bedeutung sind, entsprachen serologische Reaktion und Safttiter von *D. f.*-infizierten Pflanzen in der Größenordnung den Werten bei *M. p.*-Übertragung, wobei derartige Virusgehalte den Nachweis eines nahezu 100%igen Infektionserfolges ermöglichten. Aber selbst mit geringeren Virusmengen als den bei *D. f.*-infizierten Rüben gefundenen hätte sich noch ein gesicherter Nachweis durchführen lassen. Die Möglichkeit einer mangelnden Nachweisbarkeit des durch *D. f.* übertragenen Virus scheidet also aus. Im Gegensatz zu den Ergebnissen des Versuches 1 konnte in den weiteren Untersuchungen kein Beweis für eine Verzögerung der Virusvermehrung und -ausbreitung nach *D. f.*-Infektion erbracht werden. Es ist eher anzunehmen, daß ein großer Teil des *D. f.*-übertragenen Virus von vornherein einer vollständigen Inaktivierung unterliegt. Wie schon HARTSUIJKER (1951) betont, muß aber damit gerechnet werden, daß sich unter bestimmten, z. Z. noch unbekannten Bedingungen auch ein wie in Versuch 1 erzielltes Ergebnis wiederholen kann.

Literaturverzeichnis

- BAWDEN, F. C., 1955: Plant Pathology Department, in: Rothamsted Experimental Station, Report for 1954, p. 87, Harpenden.
- BERCKS, R., und K. ZIMMER, 1956 a: Untersuchungen über die viröse Rübenvergilbung. *Phytopath. Z.* **25**, 255—266.
- —, und — —, 1956 b: Über den serologischen Nachweis der virösen Rübenvergilbung und den Virusgehalt kranker Rüben. *Phytopath. Z.* **26**, 323—330.
- BJÖRLING, K., 1952: On the significance of different vectors of sugar beet virus yellows. *Acta Agric. Scand.* **2**, 258—278.
- BURGHARDT, H., und J. BRANDFS, 1957: Elektronenmikroskopische und serologische Untersuchungen über das Vergilbungsvirus der *Beta*-Rüben. *Naturwissenschaften* **44**, 266 bis 267.
- HARTSUIJKER, K., 1951: De Vergelingsziekte der bieten. I. Sammenvattend verslag over het onderzoek in de jaren 1940—1948. Meded. Inst. rat. Suikerproductie, Bergen op Zoom, **21**, 15—175.

- HEINZE, K., 1949: Die Viruskrankheiten der Rübe und ihre Übertragung durch Insekten. Nachrichtenbl. Deutsch. Pflanzenschutzd. (Berlin), N. F. 3, 1—7.
- —, 1957: Das pflanzliche Virus im Überträger und seine Einbringung in die Pflanze. Z. angew. Zool. 44 (2), 187—227.
- KENNEDY, J. S., A. IBBOTSON and C. O. BOOTH, 1950: The distribution of aphid infestation in relation to leaf age. I. *Myzus persicae* (Sulz.) and *Aphis fabae* (Scop.) on spindle trees and sugar-beet plants. Ann. appl. Biol. 37, 651—679.
- SEDLAG, U., 1953: Untersuchungen über den sommerlichen Massenwechsel der Vektoren der virösen Rübenvergilbung in Mitteldeutschland. Nachrichtenbl. Deutsch. Pflanzenschutzd. (Berlin), N. F. 7 (33), 161—168.
- —, 1954: Konstanz und Relativität des Erfolges bei Infektionsversuchen mit dem Virus der „virösen Vergilbung der Rübe“. Nachrichtenbl. Deutsch. Pflanzenschutzd. (Berlin), N. F. 8 (34), 101—107.
- STEUDEL, W., und A. HEILING, 1954: Die Vergilbungskrankheit der Rübe. Mitt. Biol. Zentralanst. Land- u. Forstwirtschaft., Berlin-Dahlem, 79, 132 S.
- WATSON, M. A., 1946: The transmission of beet mosaic and beet yellows virus by aphids: a comparative study of a non-persistent and a persistent virus having host plants and vector in common. Proc. Roy. Soc. London, Ser. B. 133, 200—219.
- —, 1952: Beet yellows virus and other yellowing virus diseases of sugar beet. Rothamsted Experimental Station, Report for 1951, 157—167, Harpenden.

Untersuchungen über ein Kruziferen-Virus

Von

H. A. USCHDRAWITZ und H. VALENTIN

Mit 7 Abbildungen

Die ersten Berichte über pflanzliche Viruskrankheiten verdanken wir nicht den wirtschaftlichen Schäden, die früher bei hauptsächlich generativer Vermehrung der Kulturpflanzen wohl auch nicht so erheblich wie heute waren, sondern den für den damaligen Geschmack erfreulichen Mosaikzeichnungen der Blätter und vor allem der Blüten. So finden wir in der ersten Nummer der ersten deutschen Gartenzeitschrift, dem „Journal für die Gartenkunst“ aus dem Jahre 1783 auf den Seiten 58/59 folgenden Bericht „Von den Levkoien“:

„Es ist eine wirkliche Zierde einer Levkoienflor, wenn unter derselben auch, von allen Farben picottirte, mit weiß gemischte, Blumen sind. Ich habe lange in den Gartenbüchern, aber immer vergeblich gesucht, wodurch diß Picottirtwerden bewirkt werden könne, und so oft ich in einem Garten dergleichen angetroffen, hab ich mich sorgfältig nach der Art der Behandlung erkundigt. Allein, entweder sahe mich der Gärtner mit einer sehr geheimnisvollen Mine an, und sagte mir etwas Falsches, oder man gab einem bloßen Ungefähr Schuld. Und ich glaube wirklich, daß ein mancher die Ursache des Picottirtwerdens seiner Stöcke selbst nicht gewußt hat. Durch ein Ungefähr bin ich aber doch endlich belehrt worden, wie man alle und jede Stöcke dazu bringen könne, und ich Sorge nun gleich im Spätjahr beim Versetzen dafür, daß einige von jeder Farbe dazu zubereitet werden. Ich mache es auf folgende Art: Wenn ich nach der schon beschriebenen Art den Topf mit etwas Erde gefüllt habe, und nun den Stock in denselben hinein stelle, so nehme ich aus einem Gewölb, wo die Erde stark mit Salpeter geschwängert ist, ein paar Hand voll Erde, und drücke es gelind an die Wurzeln an, und dann wird der Topf mit gewöhnlicher Erde aufgefüllt. Auf diese Art, fehlt es mir nun, niemals mehr an picottirten Stöcken. Man muß aber nicht zu viel Erde aus dem Gewölb nehmen, weil sonst die Levkoien ihre Grundfarbe beynahe ganz verlieren und schmutzig weiß werden. Den Stöcken bringt dieses Verfahren nicht den geringsten Schaden.“

Man kann wohl mit Sicherheit annehmen, daß der anonyme Verfasser dieser Zeilen das „Picottirtwerden“ einer Virusinfektion verdankt, die er durch seine Manipulation mit der „mit Salpeter geschwängerten Erde“ mechanisch weitergetragen hat.

Diese gebrochenen Blütenfarben treten auch heute vielfach auf und sind besonders für den Levkoienzüchter sehr störend, da sie eine Beurteilung der Sorten sehr erschweren, wenn nicht unmöglich machen (Abb. 1). Auch trifft

die Bemerkung, daß das obige Verfahren „den Stöcken nicht den geringsten Schaden“ bringt, für unsere modernen Levkojen nicht zu; sie sind abgesehen von der heute wenig geschätzten Blütenfarbenbrechung meist in der Entwicklung sehr gestört. Da nach der Literatur mehrere Viren eine Blütenfarbenbrechung bei der Levkoje hervorrufen können, steht es nicht fest, durch welches dieser Viren das oben beschriebene „Picottiertwerden“ hervorgerufen wurde. Die wirtschaftliche Bedeutung der heute auftretenden Virose, über die im folgenden berichtet wird, macht aber eine genauere Untersuchung, vor allem auch im Hinblick auf die Winterwirte notwendig. Wie weiter unten näher ausgeführt wird, zeigt das Virus eine deutliche Verwandtschaft mit dem Wasser- und Kohlrübenmosaik und soll im folgenden als Variante dieses Virus bezeichnet werden. Die Verbreitung infizierter Wirtspflanzen ist recht erheblich, denn bei den im Institut für gärtnerische Virusforschung der Biologischen Bundesanstalt durchgeführten Erhebungen über die Virusverseuchung besonders der Kulturstauden im Bereich der Großstädte konnte bei Zierpflanzen ein Befall von 3 bis 5 %, bei Wildpflanzen ein noch höherer Prozentsatz festgestellt werden.

Das Testpflanzensortiment für diese Variante umfaßt bei unseren Versuchen *Nicotiana tabacum* var. Samsun, *Chenopodium quinoa*, *Matthiola incana* und *Sinapis alba*. Samsuntabak



Abb. 1. Blütenfarbenbrechung bei einer Kultursorte von *Matthiola incana* durch eine Variante des Wasser- und Kohlrübenmosaiks.

(Phot. E. Schälöw, Biologische Bundesanstalt, Berlin-Dahlem)

zeigt drei Tage nach der Inokulation auf den Infektionsblättern 2 bis 2,5 mm große, runde, braune bis braunschwarze Primärläsionen ohne systemische Erkrankung der Pflanze. Die Inkubationszeit bei *Chenopodium quinoa* dauert vier bis sechs Tage; dann lassen die inokulierten Blätter 1 mm große, runde, schwachgelbe, teilweise ineinander verlaufende Primärläsionen erkennen (Abb. 2). Unter noch nicht näher bekannten Umständen kommt gelegentlich systemische Erkrankung vor. *Matthiola incana* reagiert auf eine Infektion ohne typische Primärsymptome, wenn von wenigen in Ausnahmefällen vorkommenden gelbgrünen Flecken abgesehen wird. Dagegen tritt hier nach 10 bis 14 Tagen eine deutliche Scheckung und Mosaikzeichnung am Zuwachs auf, später rollt sich der Blattrand manchmal nach oben oder unten leicht ein, der Pflanzenwuchs ist gehemmt, und die Blüten zeigen mehr oder weniger weitgehende

Farbenbrechung. An *Sinapis alba* ist nach fünf bis sieben Tagen eine großflächige chlorotische Scheckung zu erkennen, die, vom Blattrand ausgehend, schließlich das ganze Blatt bedeckt und am Ende eine chlorotische Verfärbung mit grünen Einsprengseln entstehen läßt; der Wuchs ist gehemmt. Die Übertragung erfolgt in der üblichen Weise mit Preßsaft, wobei Karborundzusatz die Infektiosität auf *Chenopodium quinoa* und *Sinapis alba* wesentlich fördert.

Das Virus konnte bei 30 Arten aus zehn Familien und 22 Gattungen nachgewiesen werden. Die Symptome sind sehr unterschiedlich; neben weitgehender Latenz (La) kommen Stauungen (St), Blattscheckungen (Bs) und Blattentstellungen (Be), gelegentlich auch Blütenfarbenbrechung (Bfb) und Nekrosen (Ne) vor (siehe Tab. 1). Über die Hälfte aller kranken Pflanzen sind auch zugleich Winterwirte für dieses Virus. Jedoch gibt es auch ausdauernde Wirtspflanzenarten, die durch den Virusbefall so geschwächt werden, daß sie den Winter nicht oder nur schlecht überstehen. Diese Beobachtungen wurden durch mehrjährige Kulturversuche bestätigt, wobei

Digitalis lanata nahezu 50 %, *Cheiranthus cheiri* über 50 % (Abb. 3) und *Hesperis matronalis* jeweils 100 % Ausfall zeigten. Die Verluste scheinen besonders dann groß zu sein, wenn außer unserem Virus noch andere Viren in Mischinfektionen vorkommen, was nach unseren Erfahrungen sehr häufig zu konstatieren ist. Andere Arten, besonders latente Träger, überstanden selbst schwere Winter ohne Schädigung. *Alliaria officinalis*, ein in Parks viel vorkommendes Unkraut, scheint besonders häufig infiziert zu sein. Vielleicht erweckt sie diesen Eindruck aber nur durch die sehr deutlichen Symptome. Im Berliner Raum gibt es manches Jahr in einigen Parks kaum eine gesunde Pflanze.



Abb. 3. *Cheiranthus cheiri*. Links gesunde, rechts viruskranke Pflanze.

(Phot. E. Schälöw, Biologische Bundesanstalt, Berlin-Dahlem)

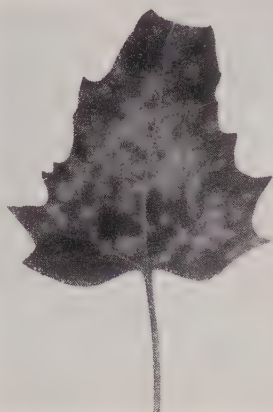


Abb. 2. Primärläsionen auf *Chenopodium quinoa*.
(Phot. E. Schälöw, Biologische Bundesanstalt, Berlin-Dahlem)

Um eine Übersicht über den Wirts-

pflanzenkreis zu erhalten, wurden Inokulationsversuche durchgeführt. Danach ist die Zahl der anfälligen Pflanzen sehr hoch. Bei reichhaltigerem Material ließe sie sich wahrscheinlich noch wesentlich erhöhen. Bemerkenswert ist, daß alle untersuchten *Cruciferae* für das Virus anfällig waren. Die mechanische



Abb. 4. *Brassica pekinensis*. Links gesunde, rechts viruskranke Pflanze.
(Phot. E. Schälöw, Biologische Bundesanstalt, Berlin-Dahlem)

Tabelle 1

Im Freiland aufgefundene Wirtspflanzen

Amarantaceae:

Amarantus caudatus L. (La)

Balsaminaceae:

Impatiens balsamina L. (Bs, Be, St)

Campanulaceae:

Campanula medium L. (La)

C. rotundifolia L. (La)

Lobelia syphilitica L. (La)

Caryophyllaceae:

Lychnis chalcidonica L. (La)

Stellaria media Villars (Bs)

Cruciferae:

Alliaria officinalis L. (Bs, Be, St, Ne)

Alyssum saxatile L. (Bs)

Arabis spec. (La)

Berteroa incana DC. (Bs, Be)

Cheiranthus allionii Hort. (Bs, St)

Cheiranthus cheiri L. (Bs, St, Bfb)

Cochlearia officinalis L. (La)

Erysimum perofskianum F. et Mey. (La)

Cruciferae:

Hesperis matronalis L. (Bs, Be, St, Bfb)

Hesperis tristis L. (Bs, Ne)

Lunaria annua L. (Bs, St, Bfb)

Matthiola annua Sweet (St, Bfb)

Matthiola incana R. Br. (Bs, Be, Bfb)

Peltaria aliacea L. (Bs, Be)

Sisymbrium austriacum Jacquin (La)

Sisymbrium irio L. (Bs, St)

Sisymbrium loeselii L. (Bs, Be, St)

Euphorbiaceae:

Euphorbia polychroma Kern. (La)

Papaveraceae:

Papaver dubium L. (Bs)

Papaver rhoeas L. (Bs, St)

Papaver somniferum L. (Bs, St)

Resedaceae:

Reseda luteola L. (Bs)

Scrophulariaceae:

Digitalis lanata Ehrh. (Bs)

Inokulation bietet die Möglichkeit, auch Reaktionen der Abreibblätter, etwa in der Form von Primärläsionen, und Frühsymptome der systemischen Erkrankung wie z. B. Adernaufhellung zu beobachten. Diese könnten für diagnostische oder taxonomische Zwecke wichtig sein. Daher wurden auch Pflanzen in die nachfolgende Liste aufgenommen, deren Anfälligkeit bereits aus der Tabelle 1 bekannt war (A = Adernaufhellung, Be = Blattenstellung, Bfb = Blütenfarbenbrechung, Bs = Blattscheckung, C = chlorotisch, La = Latenz, St = Stauchung, Kümmerwuchs, Pl = Primärläsionen, Bk = Blattkräuselung, keine S = keine systemische Erkrankung, N = Nekrosen).

Tabelle 2

Balsaminaceae:

Impatiens balsamina L. (CBs, Be)

Boraginaceae:

Lithospermum officinale L. (A, CBs, Bk)

Caryophyllaceae:

Agrostemma githago L. (gelbe N, St)

Lychnis flos-cuculi L. (CPl, Bs, St)

Spergula arvensis L. (N, St)

Stellaria media Villars (CBs)

Chenopodiaceae:

Atriplex hastatum L. (einzelne C- und N-Flecke, 1½—1 mm Ø)

Chenopodium album L. (kleine graugelbe Pl, ½—1 mm, keine S)

Chenopodium quinoa Willd. (gelbe, z. T. verfließende Pl, 1 mm, keine S)

Compositae:

Anthemis arvensis L. (La)

Galinsoga parviflora (A, CBs)

Senecio vulgaris L. (La)

Zinnia elegans Lacq. (leichte Bs)

Cruciferae:

Berteroa incana DC. (Be, St)

Brassica oleracea L. var. *capitata* (Rotkohl) (nach 15—20 Tagen gelb-grüne Bs)

Brassica oleracea L. var. *capitata* (Weißkohl) (nach 20 Tagen A, Bk, St)

Brassica oleracea L. var. *capitata* (Wissingkohl) (La)

Brassica pekinensis Rupr. (nach 20 Tagen A, Bk, St) (Abb. 4)

Capsella bursa-pastoris Medicus

Cruciferae:

(A, Bs, Be, St)

Cheiranthus cheiri L.

(graugelbe Pl ½—1 mm, keine S)

Hesperis matronalis L. (nach 10—15 Tagen dunkelbr. Pl, S: Bs, Be, Bfb)

Iberis amara L. (La)

Lunaria annua L. (CBs, St, Bfb)

Raphanus raphanistrum L. (Cbs, St)

Sinapis alba L. (CBs) (siehe Abb. 7)

Sinapis arvensis L. (Bs, Be, St)

Thlaspi arvense L. (Bs, Be, St)

Cucurbitaceae:

Bryonia dioica (nur Kotyledonen mit gelben Flecken)

Cucumis sativus (Bfb)

Geraniaceae:

Erodium cicutarium L'Héritier (nach 10 bis 15 Tagen CBs, die später nekrotisch wird)

Labiatae:

Glechoma hederacea L. (CBs, St)

Lamium album L. (La)

Leguminosae:

Lathyrus aphaca L. (A, CBs)

Papaveraceae:

Chelidonium majus L. (La)

Solanaceae:

Nicotiana rustica L. (nach 15 Tagen gelbe, unregelmäßige Pl; keine S)

Nicotiana tabacum L. Samsun (nach drei bis fünf Tagen runde schwarzbraune Pl; keine S)

Auf Virusinokulation reagierten negativ die Compositen: *Achillea millefolium* L., *Carduus nutans* L., *Chrysanthemum leucanthemum* L., *Cirsium*

arvense Scopoli, *Erigeron canadensis* L., *Taraxacum officinale* Weber und *Tussilago farfara* L.; die Solanaceen: *Datura innoxia* L., *Datura stramonium* L., *Nicotiana glutinosa* L., *Nicotiana langsdorffii* Weinm., *N. sylvestris*, *Petunia hybr.* und *Lycopersicon esculentum* Mill.; ferner *Aegopodium podagraria* L., *Anchusa officinalis* L., *Convolvulus arvensis* L., *Gomphrena globosa* L., *Plantago lanceolata* L., *Plantago media* L., *Polygonum convolvulus* L., *Polygonum persicaria* L., *Rumex acetosella* L., *Rumex crispus* L., *Tropaeolum majus* L., *Urtica dioica* L., *Vicia cracca* L. und *Vigna sinensis*.

Physikalische Eigenschaften

Zur Bestimmung des thermalen Inaktivierungspunktes und des Verdünnungsendpunktes diente zentrifugierter Preßsaft von kranken *Matthiola incana*-Pflanzen. Als Testpflanzen wurden *Nicotiana tabacum* var. Samsun, *Chenopodium quinoa* und *Sinapis alba* benutzt. Das Ergebnis galt als positiv, wenn Primärläsionen oder sonstige Virussymptome wahrgenommen werden konnten.

Thermaler Inaktivierungspunkt: Jeweils 1 ccm zentrifugierter Preßsaft wurde in Glasampullen eingeschmolzen, bei entsprechender Temperatur zehn Minuten lang im Ultrathermostaten erhitzt, mit Leitungswasser abgekühlt und sofort auf Testpflanzen abgerieben. Bei allen Untersuchungen lag die Inaktivierungsgrenze oberhalb 55 °C. Fast immer trat die Inaktivierung zwischen 56 ° und 58 °C ein, so daß für dieses Virus ein thermaler Inaktivierungspunkt um 57 ° angegeben werden kann.

Verdünnungsendpunkt: Die Verdünnungsserien sind mit destilliertem Wasser angesetzt worden. Das Untersuchungsergebnis war nicht immer einheitlich. Unterhalb einer Verdünnung von 1 : 10 000 zeigten noch alle Testpflanzen positive Reaktionen. Lebensbeständigkeit in vitro: Der hierzu benötigte Preßsaft wurde in Glasampullen eingeschmolzen und bei Zimmertemperatur zwischen 20 ° und 22 °C dunkel aufbewahrt. Inaktivierung trat nach 12 bzw. 14 Tagen ein. Nur einmal war der Preßsaft noch nach 20 Tagen infektiös.

Austrocknungsfähigkeit: Viruskranke *Matthiola incana* wurde kurz über der Wurzel abgeschnitten und bei Zimmertemperatur (20 ° bis 22 °C) an der Luft zum Trocknen aufgehängt. Die trockene Pflanzenmasse wurde mit Wasser aufgeweicht und auf Samsun-Tabak abgerieben. Nach 16 Tagen bildeten sich noch allgemein Primärläsionen, selbst nach 21 Tagen konnten noch Infektionen erzielt werden. Wenn die Pflanzen zur Austrocknung im Brutschrank einer ständigen Temperatur von 35 °C ausgesetzt wurden, war das Virus noch nach drei Tagen voll aktiv.

Elektronenoptische Untersuchungen¹⁾

Die Untersuchungen erfolgten mit dem elektrostatischen Elektronenmikroskop EM 8/2 der Firma AEG/Zeiss. Alle Aufnahmen wurden bei einer

¹⁾ Die Untersuchungen am Elektronenmikroskop wurden zum Teil durch Herrn Dr. J. BRANDES, BBA Braunschweig, durchgeführt, dem wir dafür hier unseren Dank aussprechen.



Abb. 5. Fadenförmige Teilchen der Variante des Wasser- und Kohlrübenmosaikvirus. Vergr. 40 000fach.

(Elektr. opt. Aufn. J. Brandes, Biologische Bundesanstalt, Braunschweig)

Originalvergrößerung von 5400mal angefertigt und die Teilchenlänge bei einer Gesamtvergrößerung von 40 000mal mit einem Kurvenmesser ermittelt. Der mögliche Fehler der Längenbestimmung liegt bei etwa 3 %.

In Exsudaten kranker Blätter (Johnson - Methode) (6) konnten stets fadenförmige Teilchen nachgewiesen werden (Abb. 5); diese fehlten immer in den gesunden Kontrollpflanzen. Insgesamt wurden fast 300 Teilchen mehrerer Herkunft von *Matthiola incana* und *Brassica pekinensis* vermessen. Ihre Längenverteilung ist als Treppenpolygon dargestellt, wobei die Klassenbreite 25 m μ beträgt (Abb. 6). Ein deutliches Maximum ist zwischen 725 und 800 m μ vorhanden (87 % aller Teilchen), was der Normallänge

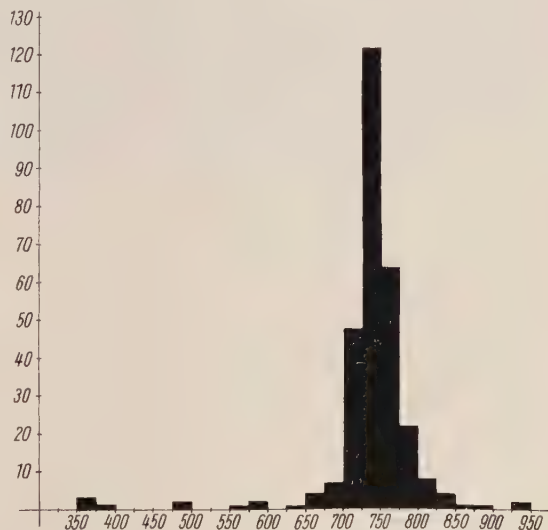


Abb. 6. Längenverteilung der Teilchen der Variante des Wasser- und Kohlrübenmosaikvirus

dieses Virus entspricht. Eine Anzahl Teilchen mit halber Normallänge lag in der Größenordnung um $375\text{ m}\mu$ vor. Für die beschriebene Variante des WKM ergibt sich demnach eine mittlere Teilchenlänge von etwa $756\text{ m}\mu$. Der Durchmesser, der etwas mehr als $10\text{ m}\mu$ beträgt, wurde nicht genau ermittelt.

Verwandtschaft mit anderen Viren

Die bisher bei Kruziferen beobachteten Viren zeigen eine so große Formenfülle, daß die Identifizierung Schwierigkeiten macht. POUND, WALKER, LARSON u. a. (1, 4, 7 u. 12) haben die in der Literatur beschriebenen Viren nach Symptomatologie, Wirtspflanzenkreis und physikalischen Eigenschaften in zwei Formenkreise eingeordnet, in denen weitgehende Übereinstimmung herrscht: I. die Turnip-Virus-1-Gruppe und II. die Cauliflower-Virus-1-Gruppe. Das von uns beschriebene Virus gehört nach dieser Einteilung in die Turnip-Virus-1-Gruppe. Trotz mancher Abweichungen erscheint es angesichts der Unsicherheiten, die über die Einteilung der Viren dieser Gruppe herrschen, berechtigt, unser Virus als eine Variante oder einen Stamm des Mosaiks der Wasser- und Kohlrübe (WKM) zu betrachten, dem u. a. Cabbage black ring spot virus Smith, Turnip mosaic virus (verschiedene Autoren) (1 u. 12), *Marmor brassicae* Holmes und noch viele andere zugeordnet wurden. Eine solche Abweichung ist z. B., daß das WKM *Nicotiana glutinosa* L., *Nicotiana langsdorffii* Weinm., *Petunia hybrida* Hort., *Datura stramonium* L. und *Brassica rapa* L. var. *esculenta communis* infiziert, während Übertragungen mit unserer Variante auf diesen Pflanzen negativ verliefen. Für ein in Berlin gefundenes Virus, das sonst mit dem WKM weitgehend übereinstimmt, zeigte sich *Nicotiana glutinosa* allerdings auch gänzlich unanfällig. Andererseits geben *Chenopodium amaranticolor* Coste und Reyn. und *C. quinoa* Willd. nur mit der Variante nekrotische bzw. chlorotische Primärläsionen ohne systemische Erkrankung. Außerdem sind beide Viren auf einigen Wirtspflanzen deutlich am Symptombild zu unterscheiden. Bei Parallelabreibungen konnte beobachtet werden, daß das WKM die Pflanzen generell stärker schädigt als die Variante. Oft führen Frühinfektionen mit WKM zum Zusammenbruch der Wirtspflanzen (*Capsella bursa-pastoris*, *Sinapis arvensis*, *S. alba*, *Spergula arvensis*, *Sisymbrium loesellii* u. a.), während ein von der Variante hervorgerufener Totalverlust des Bestandes selten ist. Bei einigen Pflanzenarten treten so spezifische Unterschiede zwischen beiden Viren auf, daß zeitweise eine Identifizierung an der Einzelpflanze möglich ist. Es zeigt z. B. *Sinapis alba* mit dem WKM infiziert nach vier bis sechs Tagen Adernnetzung und feinkörnige gelbe Fleckung auf den Blättern, während durch die Variante eine großflächige chlorotische Scheckung entsteht (Abb. 7). Jedoch gleichen sich die Folgesymptome immer mehr an, so daß spätere Differenzierung ausgeschlossen ist. Ähnliches Verhalten zeigte *Raphanis raphanistrum*. Anders reagiert *Sisymbrium loesellii*, wo durch WKM ein deutliches Mosaik ausgebildet wird, bei der Variante aber nur leichte Scheckung hervorkommt. Bei *Sinapis arvensis* sind die WKM-inokulierten Pflanzen kaum lebensfähig und sterben spätestens nach zwei bis drei Wochen ab, wogegen die Variante nur schwache Wuchsbeeinträchtigung erkennen läßt.

Auch in den physikalischen Eigenschaften gibt es zwischen beiden Viren Unterschiede. Der thermale Inaktivierungspunkt unserer Variante liegt mit 56° bis 58°C allenfalls noch im Inaktivierungsbereich des WKM. Anders verhält es sich mit dem Verdünnungsendpunkt. Für WKM konnte er bei 1 : 1000 ermittelt werden, dürfte aber nach Literaturhinweisen (8 u. 9) nicht über eine Verdünnungsgrenze von 1 : 3000 hinausgehen. Dagegen ist der Verdünnungsendpunkt für die Variante oberhalb 1 : 10 000 zu suchen. Alterung des Preßsaftes von WKM trat bei uns mit 48 Stunden ein; nach 72 Stunden ist keine Reaktion mehr wahrgenommen worden. Für die Variante konnten wir eine Lebensfähigkeit *in vitro* zwischen 12 und 14 Tagen feststellen.

Über die Form und Gestalt der Viruspartikeln des WKM bei elektronenoptischen Untersuchungen liegen widersprechende Angaben vor. Im „Sorauer“ (9) werden für das WKM sphärische Partikeln von 17 bis 19 $\text{m}\mu$ Durchmesser

angegeben. LARSON, MATTHEWS und WALKER (4) fanden flexible Fäden, deren Länge nicht angegeben wird. Unsere Untersuchungen ergaben für die Variante eine mittlere Teilchenlänge von etwa 756 $\text{m}\mu$. Die Anzahl der Messungen bei Partikeln des WKM war nicht groß genug, um definitive Aussagen machen zu können. Die größte Häufigkeit scheint bei etwa 710 $\text{m}\mu$ zu liegen, so daß nach diesem nur mit Vorbehalt zu bewertenden Ergebnis eine Differenz von 30 bis 40 $\text{m}\mu$ bestehen würde.

Bei der Übertragung durch Insekten kommen nach orientierenden Versuchen für das WKM und unsere Variante offenbar dieselben Insekten in Frage (2 u. 3).

Das im Jahre 1939 von TOMPKINS (10 u. 11) für die USA beschriebene *Matthiola*-Virus (Stockmosaikvirus, *Matthiola virus* Smith, *Marmor matthiolae* Holmes) zeigt gewisse Parallelen zu unserer Variante. Sein Vorkommen wird auch in einigen europäischen Ländern vermutet (5 u. 9), ohne daß bisher ein direkter Nachweis geführt wurde. Da es sich aber um ein ausgesprochenes Levkojenvirus handelt, das experimentell nur auf wenige Kruziferen, jedoch nicht auf Kohlarten zu übertragen war, ist eine Verwandtschaft, geschweige eine Identität zwischen der Variante und dem *Matthiola*-Virus doch wohl ausgeschlossen.



Abb. 7. Frühsymptome auf *Sinapis alba*. Links mit dem Wasser- und Kohlrübenmosaik, rechts mit der Variante infiziert.

(Phot. E. Schälöw, Biolog. Bundesanstalt, Berlin-Dahlem)

Zusammenfassung

Über eine Blütenfarbenbrechung, die wahrscheinlich durch ein Virus verursacht wurde, liegt ein Bericht bereits aus dem Jahre 1783 vor. Eine ähnliche Erscheinung, die im Berliner Raum, aber auch in anderen Teilen Deutschlands beobachtet ist, wird durch ein Virus hervorgerufen, das auf 30 Arten aus zehn Familien und 22 Gattungen gefunden werden konnte. Es hat große Ähnlichkeit mit dem Wasser- und Kohlrübenmosaikvirus und ist als Variante oder Stamm dieses Virus anzusehen. Es besitzt fadenförmige Gestalt und mittlere Teilchenlänge von 756 m μ . Physikalische Eigenschaften: Thermale Inaktivierung bei 57 °C 10', Verdünnungsendpunkt über 1 : 10 000, Infektionsbeständigkeit in vitro bei Zimmertemperatur etwa 12 bis 14 Tage.

An ein- und mehrjährigen krautigen Zierpflanzen konnte eine natürliche Infektion mit dieser Virose zwischen 3 und 5 % nachgewiesen werden. Neben latenten Virusträgern gibt es eine Anzahl Pflanzenarten, die deutliche Symptome erkennen lassen. Bei manchen Arten führt der Virusbefall zu erheblichen Verlusten bei der Überwinterung, besonders wenn Mischinfektionen mit anderen Viren vorliegen.

Die Arbeiten wurden mit Mitteln der deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt, wofür wir an dieser Stelle unsern Dank aussprechen.

Literaturverzeichnis

1. BERKELEY, G. H., and M. WEINTRAUB, 1952: Turnip mosaic. *Phytopathology* **42**, 258—260.
2. HEINZE, K., 1952: Virusübertragungsversuche mit Blattläusen auf Dahlien, Gurken, Zwiebeln, Wasserrüben und einigen anderen Pflanzen. *Z. Pflanzenkrankh.* **59**, 3—13.
3. JEFFERSON, R. N., and C. O. EADS, 1951: Control of aphids transmitting stock mosaic. *J. econ. entomol.* **44**, 278—882.
4. LARSON, R. H., R. E. F. MATTHEWS and J. C. WALKER, 1950: Relationships between certain viruses affecting the genus *Brassica*. *Phytopathology* **40**, 955—962.
5. OLIVERIA, MARIA DE L., y MARIA DE L. BARGES, 1944: Estudo dos virus das cruciferas. *Bol. Soc. broteriana, Sér. 2*, **19**, 3, pp. 265—272. Ref.: *Rev. appl. Mycol.* **25**, 67, 1946.
6. JOHNSON, J., 1951: Virus particles in various plant species and tissues. *Phytopathology* **41**, 78—93.
7. POUND, G. S., and S. C. WALKER, 1945: Differentiation of certain crucifer viruses by the use of temperature and host immunity reactions. *J. agr. res.* **71**, 255—278.
8. SMITH, K. M., 1957: A textbook of plant virus diseases. Second edition.
9. SORAUER, P., 1954: Handbuch der Pflanzenkrankheiten. Bd. 2, 6. Aufl., Lfg. 1. E. KÖHLER und M. KLINKOWSKI: Viruskkrankheiten. Berlin u. Hamburg.
10. TOMPKINS, C. M., 1939: Two mosaic diseases of annual stock. *J. agr. res.* **58**, 63—77.
11. — —, 1934: Breaking in stock (*Matthiola incana*) a virosis. *Phytopathology* **24**, 1137.
12. WALKER, J. C., F. J. LE BEAU and G. S. POUND, 1945: Viruses associated with cabbage mosaic. *J. agr. res.* **70**, 379—404.

*Aus der Biologischen Bundesanstalt, Institut für Gemüsebau und
Unkrautforschung, Neuss II Land*

Zur Symptomatik und Schadwirkung des Kohlschwarzringfleckenvirus¹⁾

Von

F. HEROLD

Mit 13 Abbildungen

Schwarzringfleckigkeit (SRF) des Kohls wurde 1955 erstmals in Deutschland (ULLRICH) und etwa gleichzeitig in Österreich (SCHREIER, VUKOVITS) nachgewiesen. Seit die Krankheit 1934 in England entdeckt wurde (SMITH), ist sie in der Tschechoslowakei (KVIČALA), USA (HOGGAN) und Südafrika (McCLEAN and COWIN) schädigend aufgetreten.

Es handelt sich bei diesem Virus um einen Stamm des Wasserrübenmosaiks (Turnip virus 1), der auch häufig auf Kohlrüben schädigend auftritt.

In Deutschland ist sie über den ersten Befallsherd bei Stuttgart (ULLRICH) hinaus nicht bekannt geworden. Es besteht aber auf Grund der bisher vorliegenden Untersuchungen durchaus die Möglichkeit, daß sie sich weiter ausbreitet. Da nach POUND und TOMPKINS die Kohlarten und nach OGILVIE auch die Sorten unterschiedlich reagieren sollen und mehrere Stämme des Virus vorkommen (McCLEAN and COWIN, BROADBENT and TINSLEY), erschienen Studien über den Krankheitsverlauf bei einheimischen Kohlvarietäten erforderlich. Über Auswirkungen auf den Ertrag waren keine Angaben bekannt, deshalb wurden an dem anfallenden Material Gewichtsbestimmungen vorgenommen. Untersuchungen an den verschiedenen Testpflanzen sollen der Erleichterung der Diagnose dienen. Die vorliegende Mitteilung erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit, da Aussagen über den Einfluß von Standortverhältnissen fehlen. Sie soll jedoch Anregung zu Beobachtungen geben und die bisherigen Untersuchungen ergänzen.

¹⁾ Die Untersuchungen wurden mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt, der dafür gedankt sei.

Zur Methodik

Die Kohlpflanzen wurden im Gewächshaus herangezogen, durch Einreibung infiziert und — soweit nicht besonders erwähnt — 8 bis 10 Tage danach mit gesunden Kontrollen im Freien ausgepflanzt und beobachtet.

Krankheitserscheinungen an Kohlarten

Blumenkohl („Delfter Markt“ zur Frühjahrs- und „Allerheiligen“ zur Herbstaussaat) zeigte als Anfangssymptom meist zuerst auf den älteren, dann auch auf den jüngeren Blättern kleine rundliche helle Flecke mit grüner Mitte (Abb. 1). Später waren diese Flecke von nekrotischen Ringen umgeben, und weitere Nekrosen hatten sich parallel der feinen Adern gebildet (Abb. 2).



Abb. 1. Frühsymptome auf Blumenkohl:
helle Flecke mit dunkler Mitte

Abb. 2. Spätsymptome auf Blumenkohl:
helle Flecke mit nekrotischen Ringen

Der eigentliche „Kopf“ war frei von Symptomen, blieb jedoch im Wachstum zurück. Im Gewächshaus beobachtete Jungpflanzen der Sorte „Italienische Riesen“ zeigten sehr starke Mosaikmusterung auf den Blättern. Dabei traten in den gelben Partien die dunklen Adern netzartig hervor. „Delfter Markt“ wies unter den gleichen Bedingungen nur mäßige Aufhellungen vornehmlich in der Nähe der Adern auf (Abb. 3).

Bei Spitzkohl („Delfter Spitz“) entstanden zunächst zahlreiche kleine, durch die feinsten Adern etwas eckig begrenzte helle Flecke mit dunkelgrüner Mitte (Abb. 4). Auf Weißkohl („Dithmarscher großer runder“) entstanden größere diffuse Aufhellungen in der grünen Grundfläche, wodurch das ganze Blatt verschwommen mosaikfleckig aussah (Abb. 5). Bei Wirsing

(„Früh-Wirsing“) waren die Anfangerscheinungen ähnlich denen von Weißkohl. Die Flecke waren jedoch teilweise etwas schärfer markiert.

Die Spätsymptome dieser drei Kohlarten waren gleich und zeigten sich wie auch die Frühsymptome vornehmlich auf den älteren Blättern: Bei starkem Befall traten zahlreiche schwarze Ringe auf, das Merkmal, nach dem die Krankheit ihren Namen erhalten hat (Abb. 6). Bei schwacher Infektion bildeten sich mehr einzeln liegende schwarze Flecke (Abb. 7). Spätbefall ließ häufig nur auf den kopfumhüllenden Blättern einige glänzende oder eingesunkene mattschwarze Flecke erkennen.

Die inneren gelbgrünen Blätter waren symptomfrei, jedoch ebenfalls infiziert.

Von den Virusmerkmalen zu unterscheiden sind zahlreiche teils ineinanderlaufende helle Flecke, die oft über größere Stellen der Blätter verbreitet



Abb. 3. Frühsymptome auf verschiedenen Blumenkohlsorten: links „Delfter Markt“, rechts „Italienische Riesen“

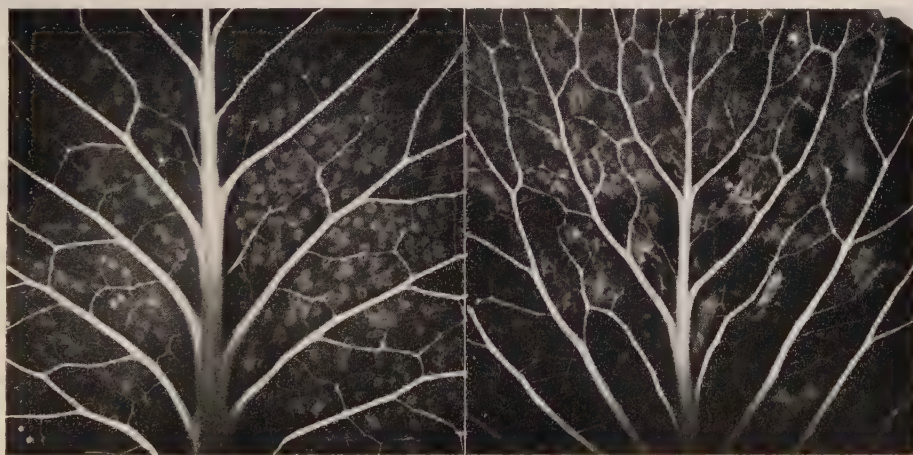


Abb. 4. Frühsymptom auf Spitzkohl: rundliche, von feinsten Adern begrenzte Flecke mit dunkler Mitte

Abb. 5. Frühsymptom an Weißkohl: diffuse Fleckung

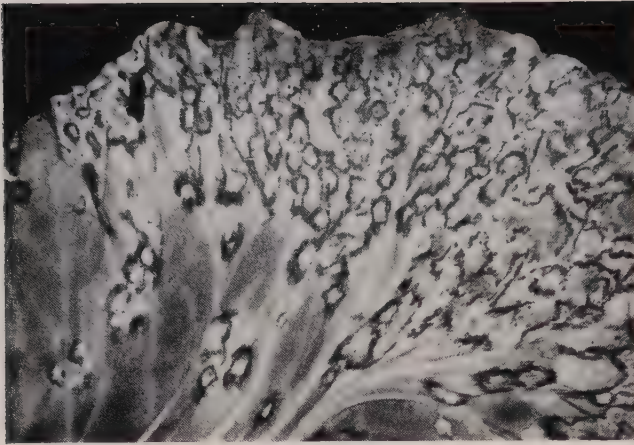


Abb. 6. Spätsymptom bei starker Infektion: nekrotische Ringe (an Weißkohl)

Ausmaß dieser Erscheinung nicht annähernd zu vergleichen mit dem Blattfall, den BUHL bei Kohl nach Erkrankung mit vermutlich dem Kräuselmosaikvirus beobachtete. — Entsprechend dem Zeitpunkt und der Stärke der Infektion war die Kopfgröße beeinflusst.

Bei Rot- und Grünkohl wurden nur die Frühsymptome studiert. Rotkohl zeigte grüne Flecke in dem rötlichen Grundgewebe oder gelbe Flecke

sind (Abb. 8). Sie bekommen keine nekrotische Umrandung, sondern können nach einigen Wochen wieder ergrünen. Durch Versuche wurde nachgewiesen, daß diese Veränderungen ehemalige Saugstellen von *Brevicoryne brassicae* darstellen.

Bei frühzeitiger oder starker Infektion wurden meist einige äußere Blätter abgeworfen, jedoch ist das



Abb. 7. Spätsymptom bei schwacher Infektion: schwärzliche Flecke (an Spitzkohl)



Abb. 8. Verwachsene Saugstellen von *Brevicoryne brassicae* (an Weißkohl)

mit roter und grüner Umrandung. Bei Grünkohl (= Krauskohl) waren die älteren Blätter mosaikfleckig, und neben den größeren Adern bildeten sich nekrotische Punkte, teilweise in Form kleiner Kreise (Abb. 9).



Abb. 9. SRF an Grünkohl: gesundes Blatt und befallenes Blatt mit hellen Flecken und nekrotischen Punkten

Die Ausbreitung des Virus durch Blattläuse kann beachtlich sein; 1956 wurden bei der Sommerpflanzung (15. 6.) 46 % und bei der Herbstpflanzung (28. 7.) 15 % der nicht infizierten Kontrollen befallen.

Auswirkungen auf den Ertrag

An den im Jugendstadium infizierten Pflanzen von Blumenkohl, Weißkohl, Spitzkohl und Wirsing wurden 1956 Ertragsmessungen durchgeführt. Nach Beobachtungen im Bestande schien die Ernteminderung zunächst nicht wesentlich zu sein. Doch ergaben Wägungen (Tab. 1) Verluste gegenüber der Kontrolle, die bei Blumenkohl in Versuch A 23 % und in Versuch B 18 %, bei Weißkohl 38 %, Spitzkohl 45 % und bei Wirsing 41 % betrugen. Dabei waren fast alle Kontrollpflanzen der drei Blattkohlarten durch die Nachbarschaft der kranken Pflanzen in späten Entwicklungsstadien noch infiziert worden, so daß vermutlich die Verluste bei Frühinfektion im Vergleich zu völlig gesunden Pflanzen noch höher liegen. Die angegebenen Werte sind auf Grund des geringen Untersuchungsmaterials nicht als absolutes Maß des Schadens anzusehen, sie sollen aber zeigen, daß erhebliche Ertragsausfälle eintreten können.

Tabelle 1

Kohlart	Kopfzahl*)		Durchschn.-Gew. g		relat. Ertrag	
	Infiziert	Unbehandlt.	Infiziert	Unbehandlt.	Infiziert	Unbehandlt.
Blumenkohl	5	3	370	478	77	100
Versuch A						
Blumenkohl	10	8	94**)	115**)	82	100
Versuch B						
Weißkohl	8	9	720	1170	62	100
Spitzkohl	7	8	483	900	55	100
Wirsing	6	7	313	531	59	100

*) Trotz der geringen Kopfzahl ist eine Ernteminderung als gesichert zu betrachten, da die Unterschiede der Einzelwerte zwischen den Kontrollen und infizierten Pflanzen gleichartig sind.

**) Alle Pflanzen wurden von Kohlfliegen befallen und bildeten daher nur Kümmerköpfe aus.

Zur Charakterisierung des SRF-Virus

Durch Fortsetzung der Beobachtungen auf weiteren Wirtspflanzen (ULLRICH) wurde der bei uns aufgetretene Virusstamm näher charakterisiert. Bei *Cheiranthus cheiri* verursacht er auf den inokulierten Blättern hell-



Abb. 10. Adrenaufhellung und -nekrose sowie Blattdeformation bei *Matthiola incana*

grüne rundliche Flecke, die später wieder verschwinden. Auf den Folgeblättern zeigen sich Aufhellungen zwischen den größeren Adern, teils von den feinsten Nerven ausgehend.

Bei *Matthiola incana* ruft das Virus auf den neu-zuwachsenden Blättern starke Aufhellung und vielfach Nekrosen der feinen und feinsten Adern hervor (Abb. 10). Bei beiden Wirtspflanzen treten häufig Blattdeformationen und gestauchter Wuchs sowie stets gebrochene Blüten auf.

Capsella bursa pastoris reagiert auf den eingeriebenen Blättern mit braunen Nekrosen. Das Virus wird im weiteren Verlauf systemisch und verursacht netzartig erscheinende Adrenaufhellung, Verkrüppelung und vorzeitiges Absterben der Pflanzen (Abb. 11).

Bei *Chenopodium quinoa* entstehen auf den eingeriebenen Blättern kleine hellgelbliche Flecke.

Auf *Gomphrena globosa* zeigen sich dunkelgrüne rundliche Lokalläsionen, die später rötlich werden.

Tetragonia expansa reagiert auf den inokulierten Blättern mit rundlichen (Abb. 12) und auf den neuzuge- wachsenen mit unregelmäßig geformten Flecken und Deformationen.

Auf Inokulation mit SRF reagieren die



Abb. 11. Gleichaltrige gesunde und mit dem SRF-Virus infizierte *Capsella bursa pastoris*

eingeriebenen Blätter von *Nicotiana glutinosa* und *Nicotiana tabacum* „Samsun“ mit rundlichen grauschwarzen bis dunkelbraunen Lokalläsionen, deren Mitte nekrotisch wird. Später gebildete Blätter weisen helle diffus begrenzte Flecke auf.

Durch den Übergang des Virus auf die letztgenannten Pflanzen läßt es sich leicht vom Blumenkohlmosaikvirus unterscheiden, dessen Wirtspflanzenkreis nur aus Cruciferen besteht.

Abreibungen von kranken *Brassica rapa* var. *rapa*-Pflanzen (Wasser-
rübe, ULLRICH) gelangen mit Knollenpreßsaft ebenso gut wie mit Blatt-
preßsaft.



Abb. 12. *Tetragonia expansa*: gesundes Blatt und helle Flecke auf drei inokulierten Blättern



Abb. 13. Meerrettich mit hellen ringartigen Flecken. (Die weißen Flecke sind durch Käferfraß entstandene Löcher)

Der thermale Inaktivierungspunkt ließ sich ergänzend zu der Untersuchung von ULLRICH auf 56—58 °C einengen.

Im Versuchsfeld des Instituts wurde 1955 an *Armoracia lapathifolia* (Meerrettich) an einzelnen und 1956, nachdem für die Kultur wahllos Fehser des Vorjahres verwandt worden waren, an allen Pflanzen eine Virose beobachtet. Sie zeigte sich in zahlreichen hellen, durch dunkelgrüne Mitte ringartig erscheinenden Flecken auf den älteren und einigen mittleren Blättern (Abb. 13); die jeweils jüngsten Blätter waren symptomfrei. Die Wurzeln waren zum größten Teil rein weiß.

Diese Merkmale unterscheiden sich jedoch von einer an Meerrettich bekannten Mosaikkkrankheit (KLINKOWSKI). Preßsaftabreibungen auf Wasserrübe, Spinat, *Cheiranthus*, *Nicotiana tabacum* „Samsun“, *Nicotiana glutinosa*, *Tetragonia expansa* und *Chenopodium quinoa* ergaben die gleichen Symptome wie parallel durchgeführte Inokulationen mit dem SRF-Virus. So ist nach Übereinstimmung der Reaktionen auf den genannten Wirtspflanzen mit großer Wahrscheinlichkeit anzunehmen, daß es sich um Infektion mit dem Schwarzringfleckenvirus handelt, und es wird auf die Möglichkeit der Überwinterung dieses Virus an Meerrettich hingewiesen.

Zusammenfassung

Das Schwarzringfleckenvirus ruft auf verschiedenen Kohlarten unterschiedliche Symptome hervor. Die Krankheitsmerkmale an mehreren Kohlarten werden beschrieben. Die Virose kann Ertragsschäden um 20—45 % verursachen. Der bearbeitete Virusstamm wird durch seine Reaktionen auf verschiedenen Testpflanzen charakterisiert. Eine auf Meerrettich beobachtete Virose scheint durch das gleiche Virus verursacht zu sein.

Summary

The black ring spot virus produces different symptoms in various varieties of cabbage; these are described. The losses of yield caused by the disease amount to about 20—45 %. The virus strain investigated in this study is characterized by reactions on various testplants. A virus disease observed on horse-radish seems to be caused by the same virus.

Abgeschlossen am 10. 1. 1957

Literaturverzeichnis

1. BROADBENT, L., and T. W. TINSLEY, 1953: Symptoms of cauliflower mosaic and cabbage black ring spot in cauliflower. *Plant Pathology* **2**, 88—92.
2. BUHL, C., 1950: Eine Viruskrankheit des Kopfkohls (*Brassica oleracea* L.)? *Nachrichtenbl. Deutsch. Pflanzenschutzd. (Braunschweig)* **2**, 53—54.
- *3. McCLEAN, A. P. D., and S. M. COWIN, 1953: Diseases of crucifers and other plants caused by cabbage black ring spot virus. *Sci. Bull. Dep. Agric. S. Afric.* **332**, 1—30. Ref.: *Z. Pflanzenkrankh.* **62**, 348—349, 1955.
4. HOGGAN, I. A., and J. JOHNSON, 1935: A virus of crucifers and other hosts. *Phytopathology* **25**, 640—644.
5. KLINKOWSKI, M., 1954: Viruskrankheiten. In: SORAUER, Handb. d. Pflanzenkrankh., 6. Aufl., Bd. 2, Lfg. 1. Verlag Paul Parey, Berlin u. Hamburg.
- *6. KVIČALA, B. A., 1948: Eine viröse Mosaikkkrankheit des Kohls und seine Beziehung zu den Blattläusen. *Ann. Czechosl. Acad. of Agricult.* **21**, 32—42. (Tschech. mit engl. Zusammenfassung.) Ref.: *Z. Pflanzenkrankh.* **57**, 369, 1950.

7. OGILVIE, L., 1949: Diseases of vegetables. 3. ed. London, S. 11 (Ministry Agric. Fish. Bull. 123).
- *8. POUND, G. S., 1947: Reactions of cabbage varieties to mosaic viruses. J. agr. Res. 75, 19—30. Ref.: Rev. appl. Myc. 27, 269, 1948.
9. SCHREIER, O., 1956: Das Auftreten wichtiger Schadensursachen an Kulturpflanzen in Österreich im Jahre 1955. Pflanzenschutzberichte 15, 168—180.
10. SMITH, K. M., 1935: A virus disease of cultivated crucifers. Ann. appl. Biol. 22, 339—342.
11. TOMPKINS, C. M., 1938: Black ring, a virus disease of cabbage and other crucifers. J. agr. Res. 57, 929—943.
12. ULLRICH, J., 1955: Die Schwarzringfleckigkeit des Kohls in Deutschland. Nachrichtenbl. Deutsch. Pflanzenschutzd. (Braunschweig) 7, 164—165.
- *13. VUKOVITS, G., 1956: Die Schwarzringfleckigkeit, eine Viruskrankheit der Kohlgewächse. Pflanzenarzt 9, 23—27. Ref.: Rev. appl. Myc. 35, 568, 1956.

Die mit * bezeichneten Schriften wurden nur im Referat eingesehen.

Disformie e Disfunzioni in *Pseudomonas savastanoi* (Smith) Stevens

Di

ONORATO VERONA e PIERO GAMBOGI

Con 7 figure

Qualche tempo addietro veniva saggiato il comportamento offerto da *Pseudomonas savastanoi* (Smith) Stevens di fronte ad una certa serie di aminoacidi¹⁾.

Alcuni, tra quelli sperimentati, si dimostrarono bene utilizzabili come sorgente azotata forse ancora meglio dei nitrati e dei sali ammoniacali; altri lo furono nei limiti di determinate concentrazioni oppure non furono utilizzati affatto; altri, infine, manifestarono addirittura azione antibatterica.

Indipendentemente dall'intensità di sviluppo la utilizzazione di alcuni aminoacidi comporta variazioni di ordine colturale e di ordine morfologico. Per rallentamento o blocco della citodieresi, queste ultime si manifestano con comparsa di filamentosità od anche con altre modificazioni che lasciano pensare possibile lo stabilirsi del ciclo „L“ (fig. 1).

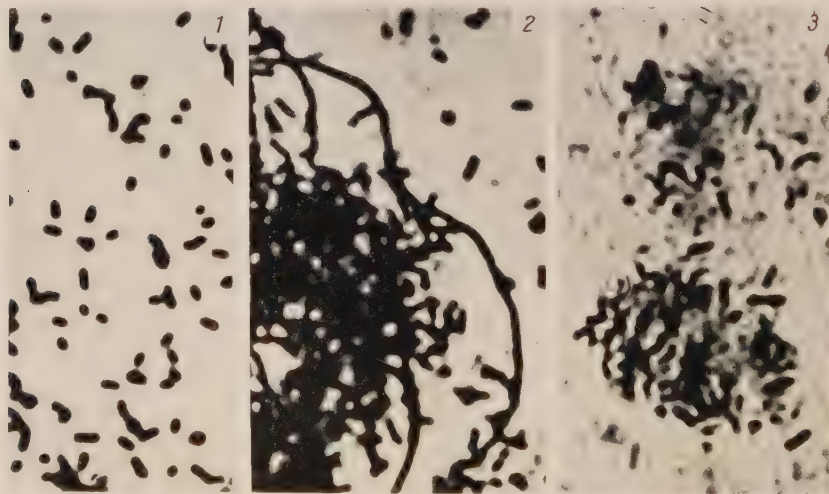
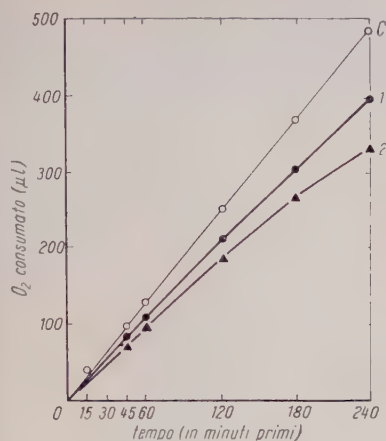


Fig. 1. Aspetti morfologici di *Ps. savastanoi* coltivato in assenza di aminoacidi (1) oppure in presenza di arginina (2) e di istidina (3)

¹⁾ P. GAMBOGI: Intorno alla utilizzazione di alcuni aminoacidi da parte di *Pseudomonas savastanoi* (Smith) Stevens. Ann. d. Sperimentaz. Agraria, 1956.



Possiamo ora aggiungere come cellule provenienti da mezzi colturali contenenti, quale sorgente azotata, certi aminoacidi, dimostrino altresì turbe respiratorie (fig. 2).

Finalmente, fu rilevato che l'utilizzazione dell'azoto aminico induce talvolta in *Ps. savastanoi* attenuazione o perdita di virulenza (fig. 3).

Fig. 2. Consumo di O₂ da parte di cellule cresciute in agar normale (C) oppure in presenza di istidina (1) o di arginina (2). (Cellule per ogni vaschetta del microrespirometro mg 3 in peso secco)



Fig. 3. Esiti delle inoculazioni artificiali conseguiti impiegando culture cresciute in assenza di aminoacidi (1) o in presenza di l-triptofano (2), sodio glutammato (3), arginina (4), leucina (5) e istidina (6). Per ogni tesi sono fotografati due rametti rappresentativi: quello a sinistra mostra l'esito delle inoculazioni al 15° giorno, quello a destra al 45° giorno

Analoghe disformie e disfunzioni sono state ora rilevate nei riguardi di culture cresciute in presenza di sali di litio in ordine alla nota azione esercitata da questo elemento.

Coltivando *Ps. savastanoi* in infuso o in agar fagioli al litio-cloruro 1—1.5—2 % già al I° passaggio si osserva una attenuazione nei fenomeni di citodieresi particolarmente resa manifesta nei primi stadi di sviluppo e allorché si inoculi con piccola massa di cellule. Dati rappresentativi sono riportati, a titolo di esempio, nell'annessa fig. 4. Essa dà l'entità dell'allungamento cellulare secondo la espressione:

$$nl = ne^{-\frac{l}{\bar{x}}}$$

ove nl è il numero delle cellule più lunghe del normale; n il numero delle cellule misurate (p. es. = 100); \bar{x} la media aritmetica della lunghezza delle cellule; e la base dei logaritmi neperiani.

Fig. 4. Intensità dell'allungamento cellulare in colture su brodo-fagioli e litio cloruro 1.5 %. (In ordinata sono segnati i valori di $\log nl/n$, in ascissa le lunghezze)

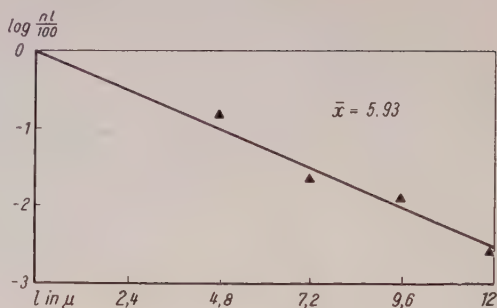


Fig. 5. Disformie e filamentosità in cellule di *Ps. savastanoi* coltivate in agar-litio. (Microfotografie elettroniche: a sinistra 10 000 \times a destra 8000 \times)

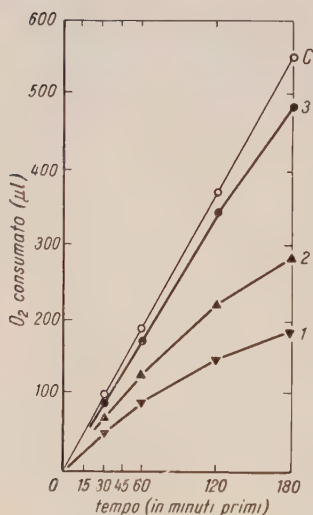
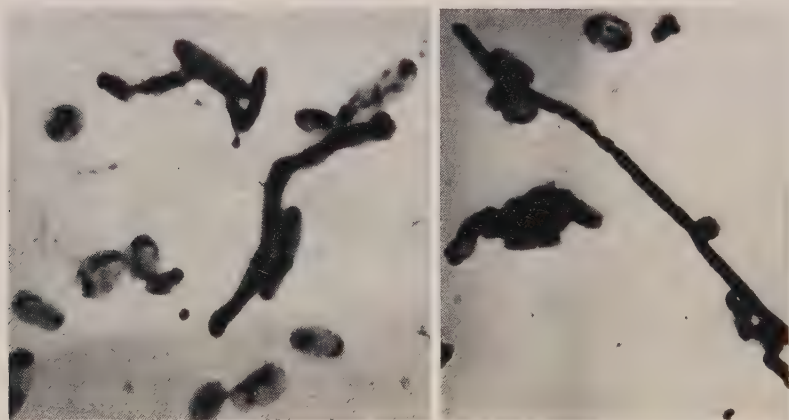
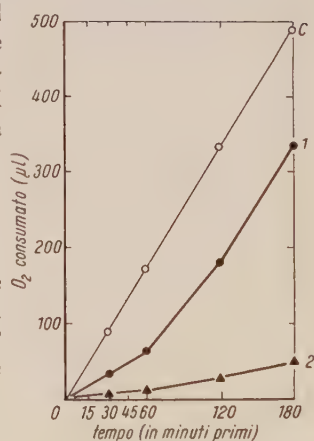


Fig. 6. Consumo di O_2 in cellule di *Ps. savastanoi* coltivate in agar-litio al 1 %, al 6 ° e al 10 ° passaggio (rispettivamente 1, 2, 3; in C controllo) (cellule per ogni vaschetta del microrespirometro mg 3 in peso secco)

Fig. 7. Consumo di O_2 da parte di cellule di *Ps. savastanoi* in presenza di cloruro di litio all' 1 % (1) e al 2 % (2). (Cellule presenti in vaschetta mg 3 in peso secco)



Variazioni nel Q_{O_2} sono state anche rilevate: a carico di cellule provenienti da colture cresciute in presenza di sali di litio (fig. 6) e poste in mezzo normale, come in cellule provenienti da substrati normali presente nel mezzo cloruro di litio (fig. 7).

Per le prime il fatto è particolarmente palese nelle colture di primo passaggio. Nelle successive colture, infatti, fenomeni di adattamento tendono a riportare le cellule nelle loro condizioni normali. Nelle seconde è notata l'azione depressiva del cloruro di litio in rapporto alle quantità presenti.

La virulenza, in cellule cresciute in presenza di sali di litio, si attenua. Inoculate mediante puntura per ago numerose piantine di Olivo con cellule cresciute su agar-normale e con cellule provenienti da colture ottenute su agar-litio la reazione neoplastica, in quest'ultimo caso, o non si è manifestata o, se manifestata, non ha progredito.

Le esperienze brevemente riferite precisano alcuni aspetti nutrizionali di *Ps. savastanoi*.

Ma, le stesse esperienze, indicano anche come il fattore nutrizionale possa essere fattore determinante di disformie e di disfunzioni a carico del patogeno, nonché fattore determinante di variazioni nel suo stato di virulenza.

Nel giuoco delle azioni e reazioni che seguono la contaminazione e quindi la colonizzazione e diffusione del patogeno nei tessuti del suscetto, quanto abbiamo notato ci consente di intravedere tutta l'importanza che hanno, nell'evoluzione del processo infettivo, da una parte le condizioni alimentari nelle quali si è sviluppato il patogeno, dall'altra le condizioni alimentari che, allo stesso patogeno, offrono i tessuti dell'ospite.

Riassunto

Gli Aa. riferiscono intorno all'influenza esercitata dagli aminoacidi e dai sali di litio sullo sviluppo di *Ps. savastanoi*. Notano il determinarsi di disformie, inclusa l'insorgenza di filamentosità; variazioni del Q_{02} e attenuazioni di virulenza.

Gli Aa. sottolineano l'importanza che hanno, nell'evoluzione del processo infettivo, da una parte le condizioni alimentari nelle quali si è sviluppato il patogeno, dall'altra le condizioni alimentari che, allo stesso patogeno, offrono i tessuti dell'ospite.

Zusammenfassung

1. Das Wachstum von *Pseudomonas savastanoi* (Smith) Stevens wird durch Arginin und Histidin wesentlich beeinflusst. Infolge Verzögerung oder Blockierung der Zellteilung entwickeln sich fadenförmige Gebilde (Fig. 1), und die Sauerstoffaufnahme wird herabgesetzt (Fig. 2). Diese und andere Aminosäuren können auch zur Verminderung oder zum Verlust der Virulenz führen (Fig. 3).

2. Auch die Zugabe von Lithiumchlorid stört die Zellteilungen und verursacht fädige Gebilde (Fig. 5). Zellen, die auf lithiumchloridhaltigem Agar gewachsen sind, zeigen im normalen, lithiumfreien Milieu eine stark verminderte Sauerstoffaufnahme (Fig. 6, 1); bei wiederholten Passagen auf lithiumhaltigem Agar verschwindet die Atmungshemmung mehr und mehr (Fig. 6, 2 und 3). Lithiumsalze vermindern auch die Virulenz der Zellen, und es treten nur begrenzte oder gar keine Wucherungen auf.

Activité anti-auxines-oxydasique de l'*Uromyces pisi* (Pers.) de By parasite d'*Euphorbia cyparissias* L. ¹⁾

Par

P.-E. PILET

Avec 3 figures

Introduction

L'augmentation de la teneur en auxines des feuilles de Tomate parasitée par le *Bacterium solanacearum* par rapport aux feuilles saines était interprétée par GRIEVE (1939, 1941) comme étant la conséquence d'une production d'hétéroauxine par les bactéries. Ces recherches ouvraient une piste nouvelle à l'étude des relations physiologiques et biochimiques entre l'hôte et son parasite.

Nous devons observer (PILET, 1952) que si les feuilles du *Sempervivum tectorum* contiennent relativement peu d'auxines extractibles lorsqu'elles sont saines, la présence d'un mycoparasite (*Endophyllum sempervivi*) entraînait un accroissement considérable de la teneur en hormones. Répétant ces expériences sur l'*Euphorbia cyparissias* parasitée par l'*Uromyces pisi*, nous constatons (PILET, 1953) que là encore la présence du champignon se traduisait par une notable augmentation de la teneur en auxines.

Des recherches du même ordre furent entreprises par HIRATA (1954), et sur un matériel varié, l'auteur confirme nos observations en montrant que les feuilles parasitées contiennent davantage d'auxines que les feuilles saines.

Dans nos précédentes observations (PILET, 1952, 1953) et pour expliquer cet accroissement de la teneur en auxines des tissus infectés, nous présentions plusieurs hypothèses susceptibles de rendre compte de ces faits:

1. Le champignon synthétise des auxines et cette production a pour effet d'augmenter la concentration des hormones des tissus parasités.
2. La plante malade réagit en fabriquant des auxines en excès d'où élévation de la teneur en hormones.
3. Le parasite, en élaborant des corps spéciaux (métabolites) assure l'activation de précurseurs auxiniques et par conséquent l'accroissement de la concentration en auxines.

¹⁾ Ce travail a pu être réalisé grâce à l'appui du Fonds national suisse pour la Recherche scientifique, la collaboration de Mlle Cl. Croutaz et l'aide technique de Mlles M. GROSS et H. SENN.

De nombreux travaux ont montré que certains champignons étaient en effet capables de produire de l'acide β -indolyl-acétique (ABIA). Retenons les recherches sur *Rhizopus suinus* (THIMANN, 1935), *Rhizobia* (GEORGI & BEGUIN, 1939), *Ustilago zae* (MOULTON & LINK, 1940; MOULTON, 1942; WOLF, 1952), *Nectria* (BERDUCOU, 1949, 1957), *Diplodia* (GENTILE & KLEIN, 1955). Ces quelques observations fournissent une confirmation de notre première hypothèse.

Signalons encore que BALDACCII (1952) a montré que si le *Giberella Fujikuroi* assure une hypertrophie des cellules d'*Oriza* qu'il parasite, ce n'est pas tant parce que ce champignon est source de facteurs de croissance, mais c'est parce que les produits du métabolisme du parasite agissent sur la teneur en hormones de l'hôte. Une telle conception viendrait à l'appui de notre troisième interprétation. Reprenant nos observations et tentant de démontrer que notre première hypothèse était peut-être la seule explication plausible des phénomènes observés, WOLF (1956) cherche d'abord à cultiver le champignon parasite en l'absence de l'hôte afin de prouver qu'il est bien producteur d'auxines. Il choisit le matériel suivant: *Gymnosporangium Juniperi-virginiana* / *Juniperus virginiana* et détermine les quantités produites d'ABIA qu'il dose à l'aide de techniques chromatographiques. WOLF obtient les valeurs suivantes: $2,2 \cdot 10^{-5}$ M après 10 jours d'incubation; $4 \cdot 10^{-5}$ M après 17 j. et $1,1 \cdot 10^{-4}$ M après 24 j.; il fait observer que ces valeurs sont très voisines de celles que nous avons trouvées pour les feuilles parasitées d'*E. cyparissias* (PILET, 1953) et confirme donc, sur un autre matériel nos observations antérieures.

Ces divers résultats nous encouragèrent à reprendre ces questions, mais cette fois sous l'angle non plus des auxines proprement dites, mais des enzymes (auxines-oxydases) qui règlent leur métabolisme (LARSEN, 1951; GORDON, 1954).

Nous avons été amené à envisager ce nouvel aspect du problème d'abord parce qu'il est relativement plus commode de doser l'activité des auxines-oxydases (tests électrophotocolorimétriques) que de déterminer la teneur en hormones (tests biologiques). —

Nous pensions d'autre part que les variations observées dans la concentration des auxines ne sont en fait que la conséquence de modifications dans l'activité des systèmes enzymatiques responsables de la régulation du métabolisme auxinique; il était donc plus intéressant de remonter à la source directe du phénomène.

Matériel et méthode

Nous avons repris le matériel utilisé précédemment (PILET, 1953) hôte: *Euphorbia cyparissias* L. parasite: *Uromyces pisi* (Pers.) de By. Nous avons toujours utilisé pour des comparaisons du matériel provenant de mêmes stations et nos essais n'ont porté que sur l'analyse biochimique des feuilles. L'étude des auxines-oxydases a été faite selon notre technique habituelle (PILET, 1957). Rappelons en brièvement le principe: une quantité connue

(poids frais) de tissus est broyée à basse température (-23°C), en présence de quelques ml d'une solution tampon ($\text{KH}_2\text{PO}_4 - \text{Na}_2\text{HPO}_4$) de pH 6,1, puis centrifugé (4000 g; 15 min). Le filtrat récolté est complété à 10 ml; 2 ml de cet extrait sont mélangés à 6 ml de solution tampon de pH 6,1 et au temps 0 à 2 ml de solution d'ABIA à 50 γ /ml. Au bout d'un certain temps (de 0 à $1,8 \cdot 10^3$ sec par exemple), 2 ml de ce mélange sont ajoutés à 8 ml de notre réactif ($\text{FeCl}_3 - \text{H}_2\text{SO}_4 - \text{H}_2\text{O}$) et la coloration de l'ABIA qui n'a pas été inactivé par voie enzymatique, est déterminée au photocolorimètre Klett-Sumerson ($\lambda: 535 \pm 35$ millimicrons). L'activité des auxines-oxydases est exprimée en μg d'ABIA détruits / 60 min / 200 mg de poids frais.

Données préliminaires

Un certain nombre d'éléments nous ont paru essentiels pour l'analyse de l'activité des auxines-oxydases. Nous avons reporté ces données dans le Tableau 1 dont l'examen va nous permettre les quelques remarques suivantes:

1. Le degré d'infection parasitaire semble dépendre de la position de la feuille sur la tige et par conséquent de son âge.
2. La densité du champignon parasite, à la surface des feuilles atteintes, varie sur l'axe de la tige et passe par un maximum qu'on peut situer pour des feuilles placées à 40 mm du sommet.

Tableau 1

Quelques données relatives à la distribution d'*Uromyces pisi* sur *Euphorbia cyparissias*

Régions:	Distance à partir du sommet / mm	Longueur des feuilles parasitées / mm	Section des feuilles parasitées / mm ²	Nombre des conceptacles écidiens	
				/ feuille	/ mm ²
I	10 ± 3	$2,5 \pm 0,5$	$3,5 \pm 1$	15,1	4,3
II	20 ± 5	3,0	4,0	18,3	4,6
III	40 ± 10	4,7	5,2	33,1	6,3
IV	60 ± 10	6,4	6,8	36,4	5,3
V	90 ± 10	7,5	10,3	37,2	3,6
VI	120 ± 10	8,2	12,7	37,8	2,9
VII	150 ± 10	9,3	13,4	38,6	2,8

Activité des auxines-oxydases

A-Feuille d'*Euphorbia cyparissias*

Nous avons choisi trois régions distinctes pour déterminer l'activité de ces enzymes dans des extraits de feuilles saines et malades. Ces régions étant caractérisées par une densité particulière des conceptacles écidiens (Voir Tableau 1). Les résultats de ces premières observations sont consignés dans le Tableau 2 d'où l'on tire les quelques remarques suivantes:

1. L'activité des auxines-oxydases des feuilles saines augmente au fur et à mesure que l'on s'éloigne du sommet de la tige. Ces observations confirment celles que nous avons consacrées à l'activité des auxines-oxydases dans les tiges du *Phaseolus multiflorus* (P.-E. PILET & L. BAILLAUD: C. R. Acad. Sc. [Paris], 244, 1530, 1957).
2. Ces enzymes sont constamment plus actives dans les feuilles saines que dans les feuilles parasitées.
3. L'inhibition de l'activité des auxines-oxydases des feuilles parasitées par rapport à celle des enzymes des feuilles saines est maximum dans la région où le champignon se trouve en plus grande quantité.

Cette dernière remarque nous, a entraîné à comparer la densité du parasite avec l'activité des auxines-oxydases dans les feuilles. Les résultats donnés dans la Figure 1 indiquent que dans les feuilles où les conceptacles écidien sont particulièrement abondants, l'activité de ces enzymes y est très faible. Ces faits paraissent indiquer que le parasite est responsable de cette très forte inhibition de l'activité des auxines-oxydases.

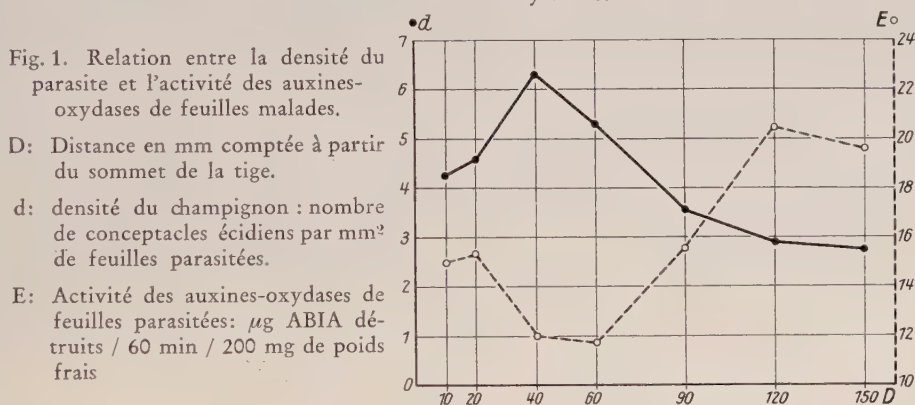


Tableau 2

Activité des auxines-oxydases de feuilles d'*E. cyparissias* exprimée en μg ABIA détruits / 60 min / 200 mg Pds frais¹⁾

Régions:	I	II	III
Distances du sommet / mm	10 \pm 3	40 \pm 10	150 \pm 10
Extraits:			
a/ Feuilles saines	30,9	31,4	38,9
b/ Feuilles parasitées	15,7	12,2	19,9
% d'inhibition de l'activité des auxines-oxydases			
F. parasitées / F. saines ²⁾	-49,1	-61,1	-48,9
FP FS			

1) Ces chiffres sont la moyenne de quatre séries de mesures (4 fois 2 ml du même extrait) portant sur dix séries d'extraits (10 fois 10 ml).

$$2) \% = \frac{FP - FS}{FS} \cdot 100 \quad \begin{array}{ll} FP < FS & \% < 0 \quad \text{inhibition} \\ FP > FS & \% > 0 \quad \text{stimulation} \end{array}$$

B - Conceptacles d'*Uromyces pisi*

On pouvait toutefois nous faire remarquer que dans les extraits de feuilles fortement parasitées, la concentration des conceptacles écidien était évidemment élevée, ce qui devait fausser l'interprétation des résultats obtenus. Pour répondre à cette objection et dans l'impossibilité dans laquelle nous nous trouvions de ne doser que les auxines-oxydases contenues dans le limbe de la feuille attaquée sans avoir dans l'extrait des traces de conceptacles écidien, nous avons cherché à déterminer l'activité de ces enzymes dans des extraits ne contenant que les conceptacles et qu'il était infiniment plus aisé de préparer. Cette expérience devait en outre nous donner quelques renseignements sur l'activité des auxines-oxydases de ces champignons.

Peu de travaux ont porté sur cette question. Citons toutefois les recherches de STOWE, RAY & THIMANN (1954) et RAY & THIMANN (1955) sur les thalles de l'*Omphalia flavida* qui montrèrent que ces cellules étaient capables d'inactiver *in vivo* l'ABIA. D'autres oxydases par contre purent être décelées dans les champignons parasites: la catalase et la tyrosinase du *Leuzites saepiara* (ZELLER, 1916); la laccase sur divers parasites dont le *Trametes lactinea* (BOSE & SARKAR, 1937) et les cytochromes-oxydases du *Ceratocystis fimbriata* (AKAZAWA & URITANI, 1934).

Les observations reportées dans le Tableau 3 indiquent que l'activité des auxines-oxydases de conceptacles écidien est:

1. relativement plus élevée comparée aux valeurs trouvées pour des extraits de feuilles parasitées.
2. relativement plus constante pour des extraits provenant de conceptacles prélevés sur des feuilles prises à divers niveaux.

Tableau 3

Activité des auxines-oxydases de conceptacles écidien
d'*U. pisi* exprimée en μg ABIA détruits / 60 min

Régions:	I	III	V	VI	VII
Distances du sommet / mm ¹)	10 \pm 3	46 \pm 10	90 \pm 10	120 \pm 10	150 \pm 10
Extraits:					
a/ pour 10 mg Poids frais	1,4	1,1	1,6	1,2	1,5
b/ pour 200 mg P. F. ²)	28	22	32	24	30

1) Il s'agit de conceptacles récoltés sur les feuilles d'*E. cyparissias* parasitées choisies à différentes hauteurs. Les distances données sont donc comptées à partir de l'extrémité supérieure de la tige.

2) Etant donné les très faibles quantités de matériel utilisé, ces valeurs indispensables pour la comparaison avec les précédents résultats, ont été calculées à partir des chiffres obtenus en a/.

Donc, les variations de l'activité des auxines-oxydases de feuilles parasitées ne sauraient être attribuées au fait que ces feuilles contiennent des conceptacles écidien eux-mêmes caractérisés par des enzymes actives. En effet, nous avons observé que les feuilles particulièrement riches en champignons étaient caractérisées par une très faible activité de leur système auxines-

oxydasique, alors que le champignon lui-même possédait des enzymes relativement très actives. Cette remarque nous fournit une nouvelle indication et nous permet de suggérer que si le champignon, et c'est incontestable, agit directement sur les enzymes des feuilles qu'il parasite, ce n'est pas par une production exagérée ou diminuée ou par une modification de l'activité de ses propres enzymes, mais c'est par une „sécrétion“ véritable que nous allons essayer de mettre en évidence.

Auxines-oxydases et auxines de feuilles d'*Euphorbia cyparissias*

Comme les résultats précédents indiquent une différence d'activité des auxines-oxydases de feuilles parasitées et de feuilles saines, il nous a paru intéressant, avant d'aller plus loin, de rapprocher ces observations de celles que nous avons faites relativement à la teneur en auxines pour le même matériel (PILET, 1953).

Le dosage des hormones de croissance extractibles et actives a été conduit selon une de nos anciennes techniques (PILET, 1951), basée sur l'emploi du chloroforme (extraction), d'agar (diffusion) et de coléoptiles d'*Avena* (Test de WENT modifié). Le matériel utilisé est identique à celui qui fut choisi pour le dosage des auxines-oxydases et les résultats obtenus, reportés dans le Tableau 4, montrent que:

1. Les feuilles saines sont moins riches en auxines actives que les feuilles parasitées.
2. Là où les auxines-oxydases sont actives, la teneur en auxines est la plus basse et réciproquement les tissus riches en auxines sont caractérisés par des enzymes correspondantes peu actives.
3. Les feuilles parasitées dont les auxines-oxydases sont peu actives sont particulièrement riches en auxines.

Tableau 4

Comparaison entre l'activité des auxines-oxydases et la teneur en auxines actives de feuilles d'*U. cyparissias*

Regions: Distances du sommet / mm	Feuilles saines		Feuilles parasitées	
	I	III	I	III
	10 ± 3	40 ± 10	10 ± 3	40 ± 10
Auxines-oxydases: μg ABIA détruits / 60 min / 200 mg Pds f.	30,9	31,4	15,7	12,2
Auxines: a/ Mol ABIA b/ 1.10 ⁻² mg équivalent ABIA / g Pds f. ¹⁾ c/ μg ABIA / 200 mg Pds f. ¹⁾	8,04 · 10 ⁻⁷ 14,07 0,28	1,1 · 10 ⁻⁶ 19,25 0,39	5,25 · 10 ⁻⁶ 91,83 1,83	1,65 · 10 ⁻⁵ 288,75 5,78

¹⁾ Pour les calculs de conversion du Mol ABIA en équivalent ou en μg nous rapporterons à une publication antérieure (PILET, 1954).

Il pouvait être intéressant de reporter graphiquement, sous une autre forme, les données précédentes. La Figure 2 établira les relations entre:

- a) le degré d'infection parasitaire,
- b) l'importance de l'inhibition de l'activité des auxines-oxydases,
- c) la teneur en auxines.

Ceci pour des feuilles prélevées dans deux régions privilégiées (à 10 et 40 mm respectivement du sommet de la tige).

Ces observations confirment que:

1. La présence du parasite se traduit a) par une inhibition de l'activité des auxines-oxydases, b) par un accroissement de la teneur en auxines.
2. Lorsque le champignon est plus abondant dans les feuilles malades, l'activité des auxines-oxydases diminue encore et la teneur en hormones actives s'accroît dans le même ordre.

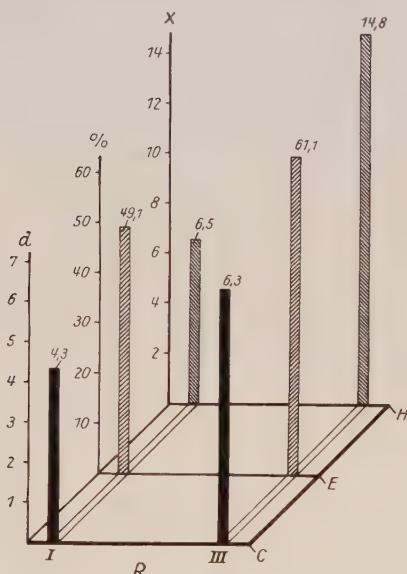


Fig. 2. Relation entre la densité du parasite, l'activité des auxines-oxydases et la teneur en auxines de feuilles saines et malades.

R: Régions étudiées, comptées à partir du sommet de la tige:

I — à 10 mm \pm 3 III — à 40 mm \pm 10

C: Champignon E: Enzyme H: Hormone

d: densité du champignon: nombre de conceptacles écidien par mm² de feuilles parasitées

%: pour-cent d'inhibition de l'activité des auxines-oxydases Feuilles parasitées/feuilles saines

X: contenu en auxines des feuilles parasitées par rapport à celui des feuilles saines (facteur de multiplication)

En nous reportant à nos recherches antérieures (PILET, 1955, 1956, 1957; PILET & GALSTON, 1955), il nous paraît logique de considérer les variations d'activité des auxines-oxydases comme étant primordiales et dire que si les auxines sont plus abondantes dans les feuilles parasitées, c'est parce que l'activité des enzymes y est plus ralentie, d'où non destruction et accumulation des hormones.

Mais si les derniers résultats que nous venons d'obtenir relativement à l'activité des auxines-oxydases permettent de comprendre nos observations sur la teneur en auxines des tissus parasités, il nous faut chercher les causes qui ont provoqué cette inactivation des systèmes enzymatiques.

Nous avons vu que le champignon est directement responsable de ce ralentissement dans le fonctionnement des auxines-oxydases. L'hypothèse que le parasite produit des substances du type „Toxines“ qui paralyseraient

l'activité de ces enzymes, doit être formulée. Cette sécrétion peut être considérée comme un véritable système anti-auxines-oxydasique. En se rapportant aux recherches récentes de DIMOND & WAGGONER, 1953, nous dirons que l'*Uromyces pisi* produit des „vivo-toxines anti-auxines-oxydasiques“.

Quelques nouvelles expériences vont nous permettre de confirmer ce point de vue.

Action anti-auxines-oxydasique d'*Uromyces pisi*

A - Sur les feuilles d'*Euphorbia cyparissias*

Les essais qui vont suivre reposent sur le principe suivant: des extraits de champignons sont mélangés à des extraits de feuilles saines (nous aurions préféré inoculer directement à des feuilles saines l'extrait du champignon, puis d'en faire un extrait. Les quelques essais préliminaires de ce type d'expériences se sont soldés par un échec qu'il est facile de comprendre en songeant à l'impossibilité dans laquelle nous nous trouvions d'évaluer correctement la concentration relative des extraits) et l'activité des auxines-oxydases est déterminée comme précédemment. On fera varier d'une part la concentration relative de l'extrait provenant du parasite et d'autre part la durée de contact (incubation) des extraits de feuilles avec ceux du champignon. Pour simplifier l'expérimentation, nous nous sommes contentés de prendre des feuilles et de récolter les conceptacles écidien au même niveau (région III: à 40 mm du sommet de la tige). D'autre part, l'incubation se fait à l'obscurité, à une température de $4^{\circ}\text{C} \pm 2$ (il a été en effet démontré que si la température s'accroît, les enzymes perdent plus rapidement leur activité: PILET, 1957 c). Pour avoir une quantité constante d'extrait de feuilles saines, nous ramenons l'extrait final à 15 ml en ajoutant quelques ml de solution tampon de pH 6,1. Nous nous arrangeons pour que l'extrait de champignon ne varie pas au cours d'une série d'essais (concentration équivalente: 30,68 mg de poids frais pour 20 ml par exemple). Il va sans dire que plusieurs essais ont été entrepris, mais dans ce genre d'expériences, nous renonçons à prendre les moyennes des divers essais et nous nous contentons d'une série de mesures.

Les résultats consignés dans le Tableau 5 autorisent les remarques suivantes:

1. L'activité des auxines-oxydases baisse avec l'accroissement du temps d'incubation, et ceci même à basse température.
2. Toutefois cette perte d'activité est faible en regard de celle qu'on observe dans les cas où les extraits de feuilles saines sont mis en contact avec des extraits de conceptacles écidien.
3. Le rôle joué par le champignon dans ces processus d'inactivation enzymatique paraît donc incontestable bien que lui-même puisse être caractérisé par une activité enzymatique relativement élevée.
4. Enfin, plus la concentration de l'extrait total en extrait de conceptacles écidien s'accroît, plus l'inhibition auxines-oxydasique est forte.

Ainsi le champignon doit être considéré comme responsable de cette accumulation d'auxines dans les tissus malades en élaborant un système anti-auxines-oxydasique qui entraîne l'inhibition de l'activité des enzymes de croissance de la feuille parasitée.

Tableau 5
Action d'extraits de conceptacles écidieux (CE) d'*U. pisi*
sur l'activité des auxines-oxydases d'extraits
de feuilles saines (FS) d'*E. cyparissias*

Fractions en ml de l'extrait				$\frac{\%}{\text{extrait CE}} / \frac{\%}{\text{extrait final}}$	Auxines-oxydases Activité en μg ABIA détruits / 60 min / 200 mg Poids f.				$\frac{\%}{\text{inhibition d'activité}} - \frac{\%}{p} = \frac{E/240 - E/0}{E/0} \cdot 10^2$
FS	CE	Sol. tam- pon pH 6,1	Tot.		Incubation: / min				
					0	30	60	240	
15	—	—	15	0	31,4	28,2	26,0	18,5	41,0
—	15 ¹⁾	—	15	100	22	21	21	14	36,4
10	1	4	15	6,6	30,5	20,3	18,5	17,9	41,3
10	2	3	15	13,3	27,4	20,7	16,3	15,1	44,9
10	3	2	15	20	28,0	25,4	20,2	17,3	38,2 (?)
10	4	1	15	26,6	25,2	20,0	16,7	12,2	51,5
10	5	—	15	33,3	23,7	27,5	11,4	9,8	58,6

1) Valeurs déterminées pour 10 mg et rapportées pour 200 mg.

B-Sur divers types de tissus

Sans vouloir pour le moment discuter de la nature chimique de ces „toxines“ inhibitrices d'auxines-oxydases, on pouvait se demander dans quelle mesure cette sécrétion fongique était susceptible d'agir sur des enzymes appartenant à des tissus différents.

Fig. 3. Variations de l'inhibition des auxines-oxydases produite par des extraits de champignon pour divers types de tissus.

R: Régions utilisées:

I. Racines du LENS, A. Coiffe, B. Meristème, C. Zone d'élongation;

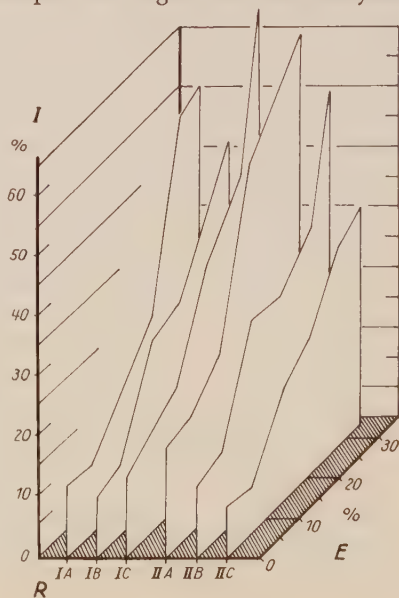
II. Carotte cultivée in vitro, Régions dans A. milieu, B. hors du milieu, C. néoformations

(Voir tableau 4)

% I: % inhibition déterminé après 240 min d'incubation par rapport à des extraits immédiatement utilisés

% E: concentration d'extrait de conceptacles en %

(Voir tableau 7)



En d'autres termes, cette nouvelle série d'essais a été entreprise avec l'intention de prouver la non-spécificité de cette production anti-enzymatique. Nous nous sommes adressé à cet effet à du matériel pour lequel nous avons déjà étudié l'activité des enzymes de croissance (Racine du *Lens culinaris*, PILET, 1955, 1957; fragments de tissus de carotte cultivés *in vitro*, PILET, 1956). Les données relatives à ces divers types de tissus utilisés ont été reportées dans le Tableau 6. Comme précédemment nous avons fait varier la concentration de l'extrait en *Uromyces pisi* et les diverses expériences qui ont été entreprises sont indiquées dans le Tableau 7. Les résultats, et nous nous bornerons ici à donner le % d'inhibition de l'activité des auxines-oxydases pour des lots incubés pendant $2,4 \cdot 10^2$ min par rapport à des extraits immédiatement utilisés, sont exposés dans la Figure 3. Ils nous permettent les conclusions suivantes:

1. L'inhibition des auxines-oxydases de racines du *Lens* (coiffe, méristème et zone d'élongation) par des extraits de conceptacles d'*Uromyces* augmente avec la concentration du champignon,

Tableau 6

Activité des auxines-oxydases pour divers types de tissus exprimée en μg ABIA détruits / 60 min / 0,1 mg protéines N (E) ou rapportée à 100 (e) pour le moins actif

Organes utilisées:	Conditions de culture:	Régions examinées:	Auxines-oxydases	
I. Racines <i>Lens culinaris</i>	Petri / White II Obscurité temp. $22^\circ\text{C} \pm 0,5$ Longueur: $18\text{ mm} \pm 0,5$	Distances à partir du sommet:	E	e
		A/ Coiffe $0 - 0,5\text{ mm} \pm 0,1$	6,8	231
		B/ Méristème $0,5 - 3,0\text{ mm} \pm 0,4$	2,9	100
		C/ Z. élongation $3,0 - 6,0\text{ mm} \pm 0,5$	12,4	428
II. Fragments <i>Daucus carota</i>	Milieu de Heller $400\text{ lux} \pm 50$ cultivés <i>in vitro</i> temp. $22^\circ\text{C} \pm 2$ Dimensions des fragments: $30/15/15\text{ mm}$ Culture de 30 jours	Distances à partir de la base:	E	e
		A/ Dans milieu $5\text{ mm} \pm 1$	19,2	532
		B/ Hors milieu $15\text{ mm} \pm 3$	14,4	399
		C/ Néo-formations $32\text{ mm} \pm 1$	3,6	100

2. des résultats absolument identiques sont obtenus pour des fragments de carotte cultivés *in vitro* (zones dans le milieu, hors du milieu et néoformations),
3. Cette inhibition (ou perte d'activité) est d'autant plus forte que les tissus contenaient initialement des enzymes plus actives.

En conclusion, des extraits d'*Uromyces pisi*, parasite d'*Euphorbia cyparissias*, entraînent l'inhibition de l'activité des auxines-oxydases, non seulement des feuilles saines de cette plante, mais encore des racines du *Lens* et des fragments de carotte cultivés *in vitro*. Cette série d'expériences permet donc de conclure à la non-spécificité de ces vivo-toxines anti-auxines-oxydasiques élaborées par le champignon parasite.

Tableau 7

Série d'essais faits pour déterminer l'action d'extraits d'*U. pisi* (plus ou moins concentrés) sur l'activité des auxines-oxydases de divers tissus (V. Fig. 3)

Essais:	Extraits tissus / ml ¹⁾	Solution tampon pH 6,1 / ml	Extraits de conceptacles écidien			Extrait solution total / ml
			/ ml	‰ / ml ²⁾	mg Poids f. / 15 ml ³⁾	
1	10	5	0	0	0	15
2	10	4	1	6,6	1,534	15
3	10	3	2	13,5	3,068	15
4	10	2	3	20,0	4,602	15
5	10	1	4	26,6	6,136	15
6	10	0	5	33,3	7,670	15

1) Voir Tableau 6.

2) Calculé sur 15 ml.

3) L'extrait initial d'*U. pisi* contient 15,34 mg Poids f. / 10 ml.

Observations sur *Euphorbia verrucosa* L. parasitée par *Uromyces scutellatus* (Schr.) Lév

Il convient de relever que les symptômes caractérisant la présence d'*Uromyces pisi* sur *Euphorbia cyparissias* (PILET, 1953) se retrouvent pour d'autres végétaux voisins parasités par des champignons de même genre, en particulier pour l'*Uromyces scutellatus* sur *Euphorbia verrucosa*. Dans un récent travail, TURIAN (1957 a) s'appuyant sur cette analogie et retenant nos précédentes observations (PILET, 1953) suppose que le taux en auxines de ces plantes malades est également plus élevé que celui des végétaux sains. Il observe d'autre part que la teneur en P libre du latex de plantes parasitées est doublée par rapport à celle de plantes non malades. Ayant montré (TURIAN, 1956) que des concentrations en auxines de l'ordre de celles que

nous avons trouvées dans. *E. cyparissias* parasitées étaient capables de stimuler l'activité des phosphatases, cet auteur croit pouvoir admettre que l'activation de la „phosphorolyse“ résulte d'une interaction auxines-phosphatases. Ces observations confirment donc, par une autre voie, celles que nous rapportons dans cette étude et nous ont engagé à déterminer l'activité des auxines-oxydases sur ce même matériel et à comparer les valeurs obtenues à celles que TURIAN donnait pour le P libéré par les phosphatases acides du latex. Les résultats contenus dans le Tableau 8 autorisent les remarques suivantes:

1. Comme pour *Euphorbia cyparissias/Uromyces pisi*, l'activité des auxines d'*E. verrucosa/U. scutellatus* est fortement diminuée dans les feuilles malades, moins toutefois dans le second cas que dans le premier (nous attribuons cette différence au fait que la densité des conceptacles écidienés était plus faible).
2. Le parallélisme entre l'inhibition de l'activité des enzymes de croissance et l'exaltation de la „phosphorolyse“ est absolument net.

Tableau 8

Activité des auxines-oxydases et „phosphorolyse“ pour des feuilles d'*E. verrucosa* parasitées par *U. scutellatus*

	Feuilles saines ¹⁾	Feuilles parasitées ¹⁾	% ²⁾	Coefficient
a/ Auxines-oxydases				
en µg ABIA détruits				
/ 60 min				
/ 200 mg poids f.	30,4	18,2	— 40,1	30,4/18,2
rapporté à 100				=
(FS)	100	59,15		1,67
b/ Phosphorolyse				
en mg P /				
g latex frais	15,8 ³⁾	33,5 ³⁾	+ 112,0	33,5/15,8
rapporté à 100				=
(FS)	100	211,05		2,12

1) Il s'agit ici d'une moyenne pour des extraits préparés à partir de feuilles récoltées tout le long de l'axe de la tige.

2) Le % d'inhibition (—) ou de stimulation (+) est calculé pour des extraits de feuilles parasitées par rapport à des extraits de feuilles saines:

$$p \% = \frac{FP - FS}{FS} \cdot 10^2$$

3) Ces chiffres sont empruntés au travail de TURIAN (1957). Il s'agit ici de la quantité de P libéré en 90 min (incubation à 37 °C) par les phosphatases acides du latex.

Discussion

Des expériences précédentes, nous avons tiré la conclusion que le champignon produisait un type de sécrétion (peut-être les „vivo-toxines“ de DIMOND & WAGGONER, 1953) qu'on peut considérer comme un réel système anti-auxines-oxydasique puisque la présence du parasite se traduit par un accroissement de la teneur en auxines résultant du ralentissement de l'oxydation *in vivo*, par voie enzymatique, des auxines endogènes.

Deux séries d'observations paraissent toutefois, à première vue, être en contradiction avec les données précédentes. Il a été démontré tout d'abord, que les échanges respiratoires de végétaux parasités sont plus intenses que ceux qui caractérisent les plantes saines. Citons, comme exemple, les expériences sur *Dioscorea batatas* parasité par *Rhizopus tritici* (WEIMER & HARTER, 1921) et par *Ceratocystis fimbriata* (URITANI & AKAZAWA, 1953) et sur *Triticum sativum* dont les semences étaient parasitées par des *Aspergillus* (HAMMER & COLL., 1954) ou dont les plantules étaient envahies par *Puccinia graminis* (KIRALY & FARKAS, 1955). Il semble évident que si l'absorption de l'oxygène est accrue, l'activité des systèmes oxydasiques doit être également augmentée. Pourtant les recherches de ALLEN & GODDARD (1938) indiquent nettement (froment atteint de mildiou) que s'il est vrai que le taux en oxygène absorbé par les plantes malades est supérieur à ce qu'il est dans les plantes saines, l'accroissement des échanges respiratoires concerne essentiellement les tissus non envahis par le parasite. Ainsi donc, la contradiction nous semble levée et on peut admettre que les tissus parasités ont en fait une respiration moins intense, et que les systèmes auxines-oxydasiques y sont moins actifs qu'ailleurs. Pourtant, une autre série d'observations confirme le fait que généralement les oxydases des tissus parasités sont plus actives que celles des tissus sains, c'est du moins ce qui été observé pour l'acide ascorbique-oxydase des galles charbonneuses du *Zea mays* (ALLEN, 1953), pour la polyphénol-oxydase (URITANI, 1953) et la cytochrome-oxydase (URITANI & AKAZAWA, 1953) des tubercules du *Dioscorea batatas* parasités par *Ceratocystis fimbriata*. Tout récemment, TURIAN (1957 b) faisait d'intéressantes observations relativement à l'*Euphorbia cyparissias* parasité par *Uromyces pisi*. Cet auteur devait démontrer que la destruction catalasique du peroxyde d'hydrogène est nettement plus active en présence d'extraits de feuilles parasitées qu'en présence d'extraits de feuilles saines. TURIAN met ainsi en opposition l'exaltation de l'activité catalasique avec la présence nécessaire des peroxydes en général pour le fonctionnement des auxines-oxydases. Il suppose que cet antagonisme pourrait peut-être éclairer le problème que pose l'accroissement de la teneur en auxines observé dans ces mêmes tissus par PILET (1953). Cette seconde remarque nous oblige à supposer que la „sécrétion“ du parasite n'est pas un poison des oxydases puisque certaines de ces enzymes paraissent être stimulées dans leur activité, mais une toxine spécifique nettement anti-auxines-oxydasique. Cette vivo-toxine agirait sur le

métabolisme des auxines par contre-coup (PILET, 1952, 1953) puisqu'elle modifierait l'activité des auxines-oxydases directement responsables de la teneur en hormones de croissance des tissus.

Conclusion

Certes, les phénomènes biochimiques qui sont la conséquence de l'installation de parasites fongiques dans les tissus des végétaux supérieurs sont aussi variés que complexes (Voir les récentes mises-au-point de KERN, 1956 et de CHEVAUGEON, 1957). Mais, et cette étude nous paraît le démontrer nettement, l'action du parasite sur les processus morphologiques, physiologiques et biochimiques qui se déroulent dans la plante, se manifeste d'une façon caractéristique par une perturbation du métabolisme auxinique. Les plantes malades sont plus riches en auxines que les plantes saines et le champignon est responsable de cet accroissement de la concentration en hormones de croissance.

Les hypothèses de départ (PILET, 1953) peuvent être conservées sans modification. Le champignon est d'une part producteur d'auxines et les recherches de WOLF (1956) sont venues appuyer cette conception. D'autre part, le fait que les plantes parasitées exagéreraient leur formation d'auxines par réaction auto-défensive paraît également probable, bien qu'il soit difficile de le prouver expérimentalement. Enfin la sécrétion par le parasite de pré-curseurs auxiniques ou d'autres substances qui perturberaient le métabolisme général de la plante hôte demeure une hypothèse tout à fait admissible (Cette conception viendrait donc soutenir le point de vue de BALDACCI, 1952).

Mais à ces diverses interprétations vient s'ajouter une nouvelle explication plus générale, susceptible d'ailleurs d'englober les hypothèses précédentes. Il nous paraît en effet possible maintenant d'affirmer que la présence du parasite ne se traduit pas tellement par une surproduction d'auxines, mais bien par une non-destruction d'hormones, en d'autres termes par une accumulation d'auxines. Le champignon, en produisant des vivo-toxines qui jouent le rôle de véritables systèmes anti-enzymatiques, serait responsable de cette considérable diminution de l'activité des auxines-oxydases et par conséquent de l'accroissement de la teneur en auxines des tissus malades.

Zusammenfassung

1. Von *Uromyces pisi* befallene Blätter von *Euphorbia cyparissias* enthalten eine größere Menge extrahierbarer aktiver Auxine als gesunde Blätter.
2. Diese hohe Hormonkonzentration könnte einerseits aus der Annahme der Bildung der Auxine und ihrer Vorstufen durch den Pilz und die befallene Pflanze oder andererseits auch dadurch erklärt werden, daß der

Parasit Substanzen erzeugt, die imstande sind, die Auxinbildung zu intensivieren.

3. Die Wirksamkeit der Auxin-Oxydasen (Enzyme, welche die Inaktivierung der Auxine *in vivo* regulieren) ist in den gesunden Blättern durchweg größer als in kranken Blättern, so daß man annehmen kann, daß diese Enzyme in den befallenen Blättern gehemmt werden. Diese Hemmung erreicht ihr Maximum an den Stellen des dichtesten Pilzbefalls.
4. In den Aecidien bleibt die Wirksamkeit der Auxin-Oxydasen mehr oder weniger konstant. Die zwischen gesunden und kranken Blättern gefundenen Unterschiede können nicht auf Enzyme des Parasiten zurückgeführt werden, da an jenen Stellen, an welchen der Pilzbefall am stärksten ist, die Enzyme der Blattextrakte eine geringe Wirksamkeit besitzen.
5. Als primäres Moment muß vielmehr die Hemmung der Auxin-Oxydase-Aktivität betrachtet werden, wobei die Zunahme des Auxingehaltes der kranken Blätter als unmittelbare Folge eintritt. Der Pilz ist zweifellos die Ursache dieser Herabsetzung der Enzymaktivität. Es muß also die Annahme, daß der Parasit der Bildungsort von „Toxinen“ sei, welche die Auxin-Oxydase hemmen, in Betracht gezogen werden, wobei man die ausgeschiedenen Stoffe als ein regelrechtes *Anti-Auxin-Oxydase-System* betrachten könnte.
6. Auch Versuche mit Auszügen gesunder Blätter, denen Pilzextrakte beigemischt werden, zeigen deutlich diese anti-enzymatische Wirkung. Mit der Erhöhung der Konzentration des Pilzauszuges steigt dabei gleichzeitig die Stärke der enzymatischen Hemmung.
7. Aus anderen Versuchen, welche in der Zugabe von Pilzextraktionen zu verschiedenen Gewebeanzügen, die durch eine unterschiedliche Auxin-Oxydase-Aktivität ausgezeichnet sind (Wurzelhaube, Meristem und Zone des Streckungswachstums der Wurzel von *Lens culinaris*, *in vitro* kultivierte Gewebestücke der Karotte, sowie deren Gewebeneubildungen), bestanden, ergibt sich die Nicht-Spezifität der durch den Parasiten gebildeten anti-enzymatischen Toxine.
8. Die Prüfung der Auxin-Oxydase-Aktivität gesunder und von *Uromyces scutellatus* befallener Blätter von *Euphorbia verrucosa* zeigt Ergebnisse, die mit den angeführten Resultaten in allen Punkten übereinstimmen.
9. Nach diesen Annahmen, zu welchen die Untersuchungen über die Auxin-Oxydasen führen, scheint also die Anwesenheit des Pilzes nicht notwendigerweise in einer Mehrbildung von Hormonen, sondern in deren Nicht-Zerstörung in den befallenen Blättern zum Ausdruck zu kommen. Die Ansammlung von Auxinen in den kranken Pflanzen vermag demnach durch eine anti-enzymatische Aktivität des Parasiten erklärt zu werden.

Summary

1. The leaves of *Euphorbia cyparissias* parasited by *Uromyces pisi* contain a higher portion of extractible active auxins than the unparasited ones.
2. This high concentration of hormones could be explained by a possible elaboration of auxins and precursors by the fungus and the parasited plant and by admitting that the parasite synthesizes substances capable of activating the production of auxins.
3. The activity of auxin-oxidases (enzymes regulating in vivo inactivation of auxins) is permanently stronger with healthy than with contaminated leaves. Therefore we may consider that these enzymes are inhibited in parasited leaves. This inhibition, moreover, is maximum in the regions with the highest density of fungus-growth.
4. Auxin-oxydases activity inside ecidian conceptacles being more or less constant, the variations observed between the healthy and diseased leaves could not be attributed to differences of action of the parasite's enzymes since wherever the fungus most abounds, enzymes of leave extracts are not especially active.
5. The inhibition of auxin-oxydases activity must be considered as the primary phenomenon and the increase in auxin rate in the diseased leaves is its immediate consequence. The fungus is no doubt responsible for this decrease in enzymatic activity. The supposition that the parasite would be the source of toxins crippling the auxin-oxydases must be retained and one could consider this secretion as a genuine anti-auxin-oxidasic system.
6. Moreover, experiments bearing on extracts of this fungus mingled with extracts of healthy leaves clearly evidence this anti-enzymatic action. Whenever fungus extract concentration increases, enzymatic inhibition increases in proportion.
7. Another series of investigations bearing on fungus extract applications to several tissue-extracts characterized by varying auxin-oxidasic activity (rootcap, meristem and elongation zone of lentil roots; fragments of carrot tissues cultivated in vitro and their neoformation), shows that the „anti-enzymatic toxins“ elaborated by the parasite are not specific.
8. The anlysis of auxin-oxidases activity in healthy and diseased *Euphorbia verrucosa* leaves parasited by *Uromyces scutellatus* leads to results agreeing exactly with those we have just mentioned concerning related material.
9. Considering the new prospects opened by the study of auxin-oxidases and though the original hypotheses can be retained integrally (see 2) it

finally seems that it is not so much by hormone overproduction in parasited leaves that the presence of the fungus is manifested but by a non-destruction and therefore an accumulation of auxins in the diseased plants, a phenomenon which may be accounted for by the parasite's anti-enzymatic action.

Bibliographie

- AKAZAWA, T., and I. URITANI, 1954: Phytopathological chemistry of blackrotted sweet potato. XIII.: Respiration and terminal oxidase of *Ceratostomella fimbriata*. J. Agr. Chem. Soc. Japan **28**, 205.
- ALLEN, P. J., 1953: Toxins and tissues respiration. Phytopathology **43**, 221.
- —, and D. R. GODDARD, 1938: A respiratory study of powdery mildew of wheat. Amer. J. Bot. **25**, 613.
- BALDACCI, E., 1952: In merito alla relazione fra le sostanze di crescita e i fenomeni patologici dello sviluppo, nei vegetali. Nuov. Giorn. bot. ital., N. S. **59**, 500.
- BERDUCOU, J., 1949: Recherches sur le mode d'action de certains champignons parasites (Nectria). C. R. Acad. Sc. **228**, 1052.
- —, 1957: Mécanisme de la formation des chancres à Nectria du pommier. Rôle de l'acide indole-acétique dans la biologie de *Nectria galligena* Bres. et de *Nectria cinnabarina* Tode. Thèse Fac. Sc. Toulouse Imp. A. Goumès Toulouse.
- BOSE, S. R., and S. N. SARKAR, 1937: Enzymes of some woodrotting Polypores. Proc. Roy. Soc. London, B, **123**, 193.
- CHEVAUGEON, J., 1957: Mode d'action des champignons parasites. Bull. Soc. Bot. France **104**, 56.
- DIMOND, A. E., and P. E. WAGGONER, 1953: On the nature and role of vivotoxins in plant diseases. Phytopathology **43**, 229.
- GENTILE, A. C., and H. M. KLEIN, 1955: The apparent necessity of indoleacetic acid for the growth of *Diplodia*. Physiol. Plant. **8**, 291.
- GEORGI, C., and A. BEGUIN, 1939: Heteroauxin production by efficient and inefficient strains of *Rhizobia*. Nature **143**, 25.
- GORDON, S. A., 1954: Occurrence formation and inactivation of auxins. Ann. Rev. Plant Physiol. **5**, 341.
- GRIEVE, B. J., 1939: Epinastic response induced in plants by *Bacterium solanacearum*. Ann. Bot., N. S. **11**, 587.
- —, 1941: Studies in the physiology of host-parasite relations II: Adventitious root formation. Proc. Roy. Soc. Victoria **53**, 323.
- HIRATA, S., 1954: Studies on the phytohormon in the malformed portion of the diseased plants. Ann. Phytopathol. Soc., Japan, **19**, 33.
- HUMMEL, B. C. W., L. S. CUENDET, C. M. CHRISTENSEN and W. F. GEDDES, 1954: Grain storage studies XIII. Comparative changes in respiration, viability and chemical composition of mold-free and mold contained wheat upon storage. Cereal. Chem. **31**, 143.
- KIRALY, Z., und G. L. FARKAS, 1955: Über die parasitogen induzierte Atmungssteigerung beim Weizen. Naturwissenschaften **42**, 213.
- LARSEN, P., 1951: Formation, occurrence and inactivation of growth substances. Ann. Rev. Plant Physiol. **2**, 169.
- MOULTON, J. E., 1942: Extraction of auxin from maize, from smut tumors of maize and from *Ustilago zeae*. Bot. Gaz. **103**, 725.
- —, and G. LINK, 1940: Auxin production by *Ustilago zeae*, grown on a medium free of tryptophan. Phytopathology **30**, 17.

- PILET, P. E., 1951: Contribution à l'étude des hormones de croissance dans la racine du *Lens culinaris* Med. Mem. Soc. vaud. Sc. nat. **10**, 137.
- —, 1952: Problème hormonal concernant l'*Endophyllum sempervivi* Lév., parasite du *Sempervivum tectorum* L. Bull. Soc. bot. suisse **62**, 269.
- —, 1953: Etude physiologique du parasitisme de l'*Uromyces pisi* (Pers.) de By., sur l'*Euphorbia cyparissias* L. Experientia **9**, 300.
- —, 1954: Proposition d'une unité nouvelle pour exprimer la concentration en auxines d'un tissu végétal. C. R. Acad. Sc. **238**, 605.
- —, 1955: Auxines-oxydases et peroxydases dans les racines du *Lens culinaris* Med. Act. Soc. helv. Sc. nat. **135**, 133.
- —, 1956: Activité des auxines-oxydases dans les fragments de carotte cultivés in vitro. C. R. Acad. Sc. **243**, 1141.
- —, 1957 a: Variations de l'activité des auxines-oxydases dans les racines du *Lens*. Experientia **13**, 35.
- —, 1957 b: Activité des auxines-oxydases et vieillissement des tissus. C. R. Acad. Sc. **244**, 371.
- —, 1957 c: Dosage photolorimétrique de l'acide β indolyl-acétique: application à l'étude des auxines-oxydases. Rev. gen. Bot. **64**, 106.
- —, and A. W. GALSTON, 1955: Auxin destruction, peroxidase activity and peroxide genesis in the roots of *Lens culinaris* Med. Physiol. Plant. **8**, 888.
- RAY, P. M., and K. V. THIMANN, 1955 a: Biochemical steps in the enzymatic oxidation of indole-acetic acid. Plant. Physiol. suppl. **11**, 30.
- —, and — —, 1955 b: Steps in the oxidation of indole-acetic acid. Science **122**, 187.
- STOWE, B. B., P. M. RAY and K. V. THIMANN, 1954: The enzymatic oxidation of indole-acetic acid. Congr. intern. Bot. **8/11**, 151.
- THIMANN, K. V., 1935: On the plant growth hormone produced by *Rhizopus stolonatus*. J. Biol. Chem. **109**, 279.
- TURIAN, G., 1956: Stimulation de l'activité phosphatasique acide d'extraits de pomme de terre et de maïs par l'hétéroauxine. Biochim. et Biophys. Act. **21**, 388.
- —, 1957 a: Exaltation de l'activité phosphatasique dans le latex d'*Euphorbia verrucosa* L. parasitée par *Uromyces scutellatus* (Schr.) Lév. Ses relations avec le métabolisme auxinique. Phytopathol. Z. **28**, 275.
- —, 1957 b: Exaltation de l'activité catalasique dans les tissus d'*Euphorbia cyparissias* parasitée par *Uromyces pisi*. C. R. Acad. Sc. (Paris) **244**, 3167.
- URITANI, I., 1953: Phytopathological chemistry of blackrotted sweet potato. X: The mechanism for greening occurred on the sound part next to the injured, when dipped in sodium bicarbonate solution. J. Agr. Chem. Soc., Japan, **27**, 781.
- —, and T. AKAZAWA, 1953: Ibid. XII. Activation of the respiratory enzyme systems of the rotten sweet potato. J. Agr. Chem. Soc., Japan, **27**, 789.
- WEIMER, J. L., and L. L. HARTER, 1921: Respiration and carbohydrates changes produced in sweet potatoes by *Rhizopus tritici*. J. Agr. Res. **21**, 627.
- WOLF, F. T., 1952: The production of indole-acetic acid by *Ustiloga zeae* and its possible significance in tumour formation. Proc. Nat. Acad. Sc. **38**, 106.
- —, 1956: The production of indole-acetic acid by the Cedar Apple rust fungus, and its identification by paper chromatography. Phytopathol. Z. **26**, 219.
- ZELLER, S. M., 1916: Physiology of *Lenzites sacchararia*. Ann. Mo. Bot. Gard. **3**, 439.

Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidg. Technischen Hochschule
in Zürich

Direktor: Prof. Dr. E. Gäumann

Über die Hemmwirkung des Gynäzeums bei *Primula obconica* auf Bakterien und Pilze

I. Über Schwankungen der Hemm-Intensität

Von

J. JUNG und Chr. STOLL

Mit einer Abbildung

Inhalt: Einleitung — 1. Material und Methodik; a) Pflanzliches Material und Herstellung der Blütenextrakte, b) Testorganismen und Testverfahren — 2. Die Abhängigkeit der Hemmwirkung vom Entwicklungszustand der Blüten; die Hemmintensität a) bei ungeöffneten Blüten, b) bei geöffneten, unbestäubten Blüten, c) bei bestäubten Blüten, d) bei befruchteten Blüten, e) bei Blüten verschiedenen Alters — 3. Die unterschiedliche Hemmwirkung zweier *Primula*-Rassen — 4. Die Verteilung der Hemmstoffe auf die weiblichen Organe des Gynäzeums — 5. Resistenzerhöhung der Blütenorgane durch Infektion — Diskussion der Ergebnisse — Zusammenfassung — Literaturverzeichnis.

Einleitung

Der erstgenannte Verfasser zeigte in seiner Arbeit „Sind Narbe und Griffel Eintrittspforten für Pilzinfektionen“ (1956), daß die weiblichen Blütenorgane verschiedener Pflanzen auf das Pilzwachstum hemmend wirken. Die Ursache hierfür liegt in den durch präformierte fungostatische Stoffe bedingten Abwehrreaktionen des Gynäzeums.

In der vorliegenden Arbeit wird über Beobachtungen der Hemmintensitätsschwankungen des Gynäzeums bei *Primula obconica* berichtet. Die Versuche wurden mit Bakterien und Pilzen ausgeführt.

Herrn Professor Dr. GÄUMANN sprechen wir an dieser Stelle für die geistige und materielle Förderung der Arbeit unseren herzlichsten Dank aus.

Der erste Autor ist Herrn Professor Dr. GÄUMANN für die Gastfreundschaft und die Überlassung eines Arbeitsplatzes in seinem Institut zu größtem

Dank verpflichtet. Herrn Privatdozenten Dr. ZIEGLER danke ich für gute Ratschläge herzlichst.

Finanziell wurde mein Aufenthalt am Institut für spezielle Botanik der Eidgenössischen Hochschule in Zürich durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft ermöglicht, der ich auch hier meinen Dank wiederholen möchte.

1. Material und Methodik

a) Pflanzliches Material und Herstellung der Blütenextrakte

Als Versuchspflanzen wurden die Rassen Aalsmeer (blau) und Dondo (rot) von *Primula obconica* verwendet. Die Pflanzen stellte uns freundlicherweise die Firma M a a g, Dielsdorf, zur Verfügung, der wir an dieser Stelle nochmals unseren Dank aussprechen.

Zur Herstellung der Blütenextrakte wurden Narbe, Griffel und Fruchtknoten im Potterkolben (POTTER u. ELVEHJEM, 1936) homogenisiert und mit neutralem Wasser (pH 7), saurem Wasser (pH 4), alkalischem Wasser (pH 10), Äthylalkohol, Chloroform, Äthyläther, Essigester und Petroläther extrahiert. Die saure und alkalische Wasserlösung wurde mit 2n verdünnter Salzsäure, bzw. mit Bikarbonat und Soda hergestellt. Die Extraktion erfolgte bei 4 °C 6 bis 12 Stunden lang. Bei -2 °C wurde die Extraktlösung in einer Schnellzentrifuge bei 15 000 Umdrehungen pro Minute 15 Minuten zentrifugiert und der Extrakt dekantiert. Für die Einengung der Extrakte bewährte sich für die anorganische Phase die Gefriertrocknung und anschließende Trocknung am Hochvakuum sehr gut. Die Extrakte der organischen Phase wurden zum Teil auch im Scheidetrichter durch Ausschütteln gewonnen. Die Einengung dieser Phase erfolgte am Wasserstrahlvakuum im Wasserbad bei 30 °C.

b) Testorganismen und Testverfahren

Bacillus subtilis und *Aspergillus luchuensis* wurden als Testorganismen verwendet.

Bacillus subtilis wurde in Kolle-Schalen auf Oxo-Lab-Lemco-Agar bei 30 °C eine Woche lang inkubiert, mit destilliertem Wasser von der Schale abgelöst, dreimal gewaschen, eventuelle Bakterienverunreinigungen im Wasserbad bei 65 °C abgetötet und mit sterilem destilliertem Wasser aufgenommen. Die Bakteriensuspension wurde nach dem Agardiffusionstest weiterbehandelt. *Aspergillus luchuensis* wurde auf Reismedium in Erlenmeyerkolben (13 g geschälter Reis mit 25 ml Brunnenwasser pro 500 ml Erlenmeyer) gezüchtet. Die steril durch Watte filtrierten Sporen wurden in der Thomakammer ausgezählt und in einem bestimmten Mengenverhältnis pro ml zu dem für den Agardiffusionstest verwendeten 2%igen Wasseragar zugesetzt. In eine Petrischale wurden 17,5 ml 2%iger Malzagar und nach dem Erstarren als zweite Schicht 5 ml Wasseragar, enthaltend die

Sporensuspension, gegossen. Nach dem Erkalten des Nährbodens wurden Filterpapierrundscheibchen von 5 mm Durchmesser mit dem zu prüfenden Extrakt getränkt und steril auf die Bakterien- oder Pilzplatten aufgelegt. Diese inkubierten wir bei 32 °C bzw. bei 27 °C 12 Stunden im Thermostaten.

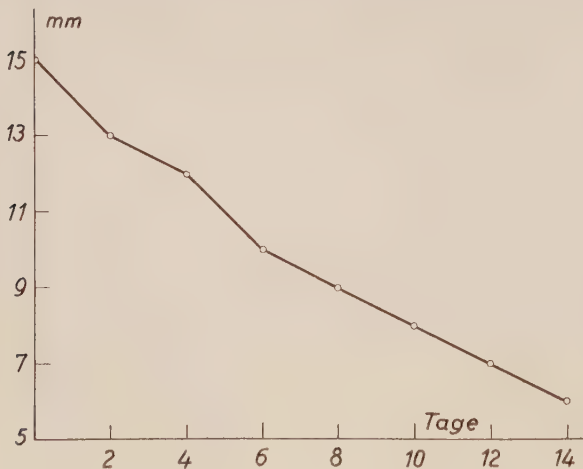
2. Die Abhängigkeit der Hemmwirkung vom Entwicklungszustand der Blüte

a) Die Blütenorgane Narbe, Griffel und Fruchtknoten von ungeöffneten Blüten entfernten wir unter sterilen Bedingungen aus der Blütenhülle und extrahierten diese nach der angegebenen Methodik. Bei diesen, sowie auch bei später erwähnten Untersuchungen arbeiteten wir stets mit einer Konzentration von 400 γ /ml Lösungsmittel.

Diese Versuche ergaben Hemmzonen bis 15 mm im Durchmesser bei der blauen Aalsmeer und Zonen bis 13 mm im Durchmesser bei der roten Dondo von *Primula obconica*.

b) Die weiblichen Geschlechtsorgane von geöffneten, unbestäubten Blüten der Sorte Aalsmeer bewirkten Hemmzonen von 13 mm im Durchmesser, bei der Sorte Dondo solche von 12 mm im Durchmesser.

c) Die Hemmwirkung nimmt bei bestäubten Blüten deutlich ab; bei der blauen Aalsmeer messen die Hemmzonen noch 10 mm im Durchmesser, bei der roten Dondo 8 mm im Durchmesser. Je weiter sich der Pollenschlauch der Samenanlage nähert, desto mehr nimmt bei gleichbleibender Extraktkonzentration die Aktivität der Hemmstoffe ab, bis sich schließlich um das Rundfilterscheibchen der Hemmhof nur noch andeutet.



Der Verlauf der Hemmaktivität von unbestäubten *Primula obconica*-Blüten verschiedenen Alters. Abszisse: Blütenalter in Tagen (bei 0 Tagen Blüten ungeöffnet).

Ordinate: Durchmesser der Hemmzonen in mm

d) sehr eindrucksvoll ist das völlige Fehlen einer Hemmzone bei befruchteten Blüten. Hier ist die Hemmwirkung der Blütenorgane vollkommen aufgehoben.

e) Die Frage, ob die Hemmwirkung des Gynäzeums durch das Blütenalter beeinflusst wird, konnte bejaht werden. Die Altersversuche wurden mit unbestäubten Blüten durchgeführt. Mit zunehmendem Alter der unbestäubten Blüten nimmt die Hemmaktivität ab (Abb.).

3. Die unterschiedliche Hemmwirkung von zwei verschiedenen *Primula*-Rassen

Es sollte die Frage geprüft werden, ob die Hemmaktivität des Gynäzeums bei *Primula obconica* gegen Bakterien und Pilze innerhalb zweier Rassen dieser Gattung und Art, gemessen an der Ausbildung der Hemmzone, rassenspezifisch verschieden groß oder bei verschiedenen Rassen gleichbleibend ist.

Dabei erhielten wir bei gleicher Extraktkonzentration von *Primula abconica* Aalsmeer Hemmzonen von 10 mm im Durchmesser, während bei Dondo Zonen bis zu 7 mm im Durchmesser erreicht wurden.

4. Die Verteilung der Hemmstoffe auf die weiblichen Organe des Gynäzeums

Die Verteilung der Hemmstoffe auf Narbe, Griffel und Fruchtknoten scheint verschieden zu sein.

Die voneinander getrennten weiblichen Organe des Gynäzeums wurden nach der üblichen Ätherextraktion auf Bakterienplatten getestet. Dabei zeigten Narben und Griffel bei ungeöffneten oder erst kurz geöffneten Blüten größere Hemmzonen als die Fruchtknoten, während bei zunehmendem Alter die Fruchtknoten eine größere Hemmaktivität aufwiesen.

5. Resistenzerhöhung der Blütenorgane durch Infektion

Es sollte die Frage untersucht werden, ob bei infizierten Blüten die Hemmaktivität verändert wird oder konstant bleibt. Dazu wurden die unbestäubten Blüten von *Primula obconica* Aalsmeer mit *Aspergillus luchuensis* infiziert, sieben Wochen nach der Infektion abgenommen und getestet.

Die 19 mm im Durchmesser großen Hemmzonen bestätigen, daß durch künstliche Infektion eine Resistenzsteigerung der Blütenorgane erfolgt.

Diskussion der Ergebnisse

Die Hemmzonen sind bei ungeöffneten Blüten, wie es die Versuchsergebnisse ausweisen, am größten. Sehr rasch nimmt die Größe der Zonen bei geöffneten, unbestäubten und bestäubten Blüten ab, bis sie bei befruchteten Blüten völlig fehlen. Das deutet darauf hin, daß es sich bei dem fraglichen Hemmstoffkomplex um präformierte, bakteriostatische bzw. fungostatische Stoffe handelt, die nicht erst durch die Einwirkung von Mikroorganismen neu gebildet werden. Der Hemmstoffkomplex scheint nach dem Öffnen der Blüten inaktiviert oder abgebaut zu werden und fehlt schließlich nach vollzogener Befruchtung, in dem Augenblick also, in dem die Infektionsgefahr durch Mikroorganismen weitgehend gebannt ist, völlig.

Durch künstliche Infektion wurden die größten Hemmzonen aller angeführten Versuche erzielt. Diese Resistenzsteigerung der Blütenorgane durch Infektion ist die Folge einer induzierten Abwehrreaktion, das heißt einer präinfektionell bereits vorhandenen und postinfektionell noch gesteigerten Abwehrreaktion.

Eine tiefere Einsicht in den Mechanismus der Hemmwirkung des Gynäzeums können wir erst gewinnen, wenn es gelingt, die chemische Natur der hemmenden Stoffe zu klären. Deshalb soll in einer weiteren Arbeit „über die stoffliche Natur des Hemmprinzips“ berichtet werden.

Zusammenfassung

1. In der vorliegenden Arbeit wird über Hemmintensitätsschwankungen des Gynäzeums bei *Primula obconica* auf Bakterien und Pilze berichtet. Diese wurden an Blüten verschiedener Entwicklungszustände, verschiedenen Alters, verschiedener Rassen und nach künstlicher Infektion geprüft. Außerdem wurde die Verteilung der Hemmstoffe auf die weiblichen Organe des Gynäzeums von *Primula obconica* untersucht.

2. Bei ungeöffneten Blüten von *Primula obconica* ist die Hemmaktivität am größten. Sie nimmt bei geöffneten, unbestäubten Blüten wenig, bei bestäubten deutlich ab. Bei befruchteten Blüten ist keine Aktivität mehr festzustellen.

3. Die Hemmaktivität nimmt mit zunehmendem Alter der unbestäubten Blüten ab.

4. Die Hemmaktivität verschiedener Rassen einer Art ist verschieden groß.

5. Das hemmende Prinzip des Gynäzeums von *Primula obconica* ist nicht auf Narbe und Griffel beschränkt, sondern kommt auch im Fruchtknoten vor.

6. Infizierte Blüten zeigen eine postinfektionell noch gesteigerte Resistenz.

Literaturverzeichnis

- ETTLINGER, L., 1946: Antibiose und antibiotische Stoffe der Pflanzen. Schweiz. Z. Path. u. Bakteriologie, 9, 352—378.
- GÄUMANN, E., 1951: Pflanzliche Infektionslehre. 2. Auflage. Basel.
- —, R. BRAUN und G. BAZZIGHER, 1951: Über induzierte Abwehrreaktionen bei Orchideen. Phytopath. Z. 17, 36—62.
- —, und O. JAAG, 1945: Über induzierte Abwehrreaktionen bei Pflanzen. Experientia 1, 21—22.
- JUNG, J., 1956: Sind Narbe und Griffel Eintrittspforten für Pilzinfektionen? Phytopath. Z. 27, 405—426.
- POTTER, U. R., and C. ELVEHJEM, 1936: A modified method for the study of tissue oxidations. J. Biol. Chem. 114, 495.
- WAKSMAN, S. A., 1947: Microbial antagonisms and antibiotic substances. New York.

Aus dem Institut für allgemeine Botanik der Friedrich-Schiller-Universität
Jena

Direktor: Prof. Dr. H. Wartenberg

Beitrag zur Kenntnis einer infektiösen Welkekrankheit der Luzerne (*Verticillium albo-atrum* R. et B.)

Von

ROLF KIESSIG¹⁾ und RENATE HALLER-KIESSIG

Mit 6 Abbildungen

Inhalt: Einleitung. — I. Das Krankheitsbild. — II. Zur Ätiologie und Pathologie der „Dürrewelke“. 1. Nachweis des Erregers; 2. Isolierung des Erregers; 3. Infektionsversuche; 4. Zur Frage nach der Infektionsquelle. — III. Welketoxine bei *Verticillium albo-atrum*. — IV. Ergebnisse und Diskussion. — Zusammenfassung. — Literaturverzeichnis.

Aus der Literatur kennen wir bisher drei infektiöse Welkekrankheiten der Luzerne.

JONES und McCULLOCH veröffentlichten 1926 Untersuchungen über eine Gefäßbakteriose der Luzerne (Erreger: *Aplanobacter insidiosum* McCull. syn. *Corynebacterium insidiosum*). Sie trat bislang nur in Nordamerika auf, wo große Schäden verursacht wurden (KLINKOWSKI und LEHMANN 1937, KÖNEKAMP 1949). WEIMER (1928) untersuchte eine in den USA häufige *Fusarium*-Welke der Luzerne. Er isolierte aus welkekranken Luzernepflanzen eine neue Varietät der Art *Fusarium oxysporum* Schlechtendahl, die er als *F. oxysporum* var. *medicaginis* Weimer beschrieb. RICHTER und KLINKOWSKI (1938) schließlich fanden in erkrankten Luzernepflanzen aus Berlin-Dahlem, dem Rheinland und Schlesien den Wirtspilz *Verticillium albo-atrum* R. et B. Diese Krankheit, ebenfalls eine Tracheomykose wie die *Fusarium*-Welke, wurde in neueren zusammenfassenden Darstellungen über Luzernekrankheiten (HEY 1945, BRAUN und RIEHM 1953) nicht mehr erwähnt. Erst 1948 wieder berichteten HANSEN und WEBER über große Schäden in den Luzernebeständen Dänemarks, die durch *Verticillium* verursacht worden waren. 1950 meldete der Pflanzenschutzdienst Wageningen das Auftreten dieser Krankheit in den Niederlanden, und 1953 konnte sie von NOBLE, ROBERTSON und DOWSON in England festgestellt werden. WELTZIEN (1957) berichtet über das Auftreten einer LuzerneWelke in Südwestdeutschland, als deren Erreger er *V. albo-atrum* isolieren konnte.

Mit unseren eigenen Untersuchungen, die 1953 begonnen wurden, sollte ermittelt werden, ob das in Mitteldeutschland in Ausbreitung begriffene „Luzernesterben“ auf eine dieser drei bekannten Welkekrankheiten zurück-

¹⁾ Gegenwärtige Anschrift: VEB Jenapharm, Technikum für Antibiotica, Jena, Otto-Schott-Straße.

zuführen ist. Dabei lag der Verdacht von Anfang an auf *Verticillium albo-atrum*, das sich dann nach den Isolierungen und Infektionen auch tatsächlich als der Erreger herausstellte.

Verticillien sind als Parasiten zahlreicher Pflanzen bekannt geworden. RUDOLPH (1931) zählt mehr denn 100 Wirte auf, und auch bei WOLLENWEBER (1932) findet sich eine stattliche Liste.

Weil die Kenntnis der Luzerneverticilliose noch nicht genügend fundiert schien, sind Untersuchungen ihrer Ätiologie und Pathologie erneut aufgenommen worden. Als ein weiteres wichtiges Problem wurde die Frage untersucht, ob *Verticillium albo-atrum* Welketoxine bildet, d. h. ob die Krankheitssymptome auf toxische Stoffe zurückgeführt werden können, die der Erreger im Wirt bildet.

I. Das Krankheitsbild

Bei der erkrankten Luzernepflanze sind nach unseren Erkenntnissen zwei Symptomgruppen festzustellen: die Welkeerscheinungen an den Blättern und Stengeln als äußeres, sichtbares Symptom und Verfärbungen im Zentralzylinder der Wurzel.

Die ersten Symptome als Anzeichen einer Erkrankung der Luzerne treten an den untersten Blättern auf. Die Fiedern werden vom Rande her chlorotisch, senken sich und falten sich zusammen. Diese Symptome können jedoch auch andere Ursachen haben. Erst wenn die Erscheinungen am Wipfel auftreten, hat man das typische Bild vor sich.

Im ersten Stadium der Krankheit kann das Welken noch reversibel sein. Die Pflanzen können morgens vollkommen gesund aussehen, sind mittags deutlich gewelkt und erholen sich gegen Abend wieder. Das reversible Welken währt meist nur wenige Tage. Ihm folgt ein sehr schnell zum Absterben führendes irreversibles Welken der Sprosse, das in den meisten Fällen von starken Chlorophylldefekten begleitet ist.

Während trockener Monate sieht man, bevor eine Vergilbung eingesetzt hat, häufig eine rötliche Verfärbung des Blattrandes, die auf Anthozyanbildung beruht. Der rötliche Farbton verblaßt später und weicht dem Gelbgrün der Chlorose. Sind die Blättchen einmal chlorotisiert, dann sterben sie ziemlich rasch ab. Bei stärkerem Wind oder bei Berührung fallen vor allem die unteren Blätter leicht ab. Da in einigen Fällen das Welken und Vertrocknen ohne vorheriges Vergilben beobachtet werden kann, entsteht der Eindruck, daß man Luzerneheu vor sich hat. Die Stengel zeigen im fortgeschrittenen Stadium der Krankheit als typisches Symptom eine Krümmung der Spitzen. Weitere Besonderheiten kann man makroskopisch weder am Stengeläußeren noch im Inneren wahrnehmen.

Oft beginnt die Welke nur an einem einzigen Trieb einer Pflanze, manchmal jedoch welken auch alle Triebe gleichzeitig. Eine Pflanze mit mehreren kranken Stengeln kann neue, äußerlich gesunde Sprosse austreiben, die aber später genau wie ältere, eventuell noch intakte Triebe nach und nach von der Welke erfaßt werden können, so daß allmählich die ganze Pflanze an der Krankheit zugrunde geht.

Nach Berichten aus England (NOBLE, ROBERTSON und DOWSON 1953) soll die Pflanze im Laufe der Erkrankung im Wuchs zurückbleiben. Wir betrachten das verminderte Wachstum jedoch als unzuverlässiges Symptom, denn meistens sterben die erkrankten Pflanzen so rasch ab, daß ein Nachlassen im Wachstum kaum ins Auge fällt.

Bei der Bewertung der Symptome darf den Erscheinungen, daß nur ein Sproß, mehrere oder gar alle Sprosse einer Pflanze zugleich an der Welke und Dürre zugrunde gehen, keine zu große Bedeutung beigemessen werden. Es handelt sich dabei weniger um das, was der Erreger vermag, als vielmehr um die Frage, ob die Pflanze unter günstigen Wachstumsbedingungen mit Achsel-, Adventivsproß- und Wurzelneubildungen schneller wachsen und den Horst regenerieren kann, als der Erreger in ihr zur Ausbreitung und zur toxischen Wirkung kommt; ob also die Pflanze der Krankheit zu entwachsen vermag, was in Jahren mit günstigen Wachstumsverhältnissen und unter günstigen Bodenbedingungen besser als im ungünstigen Milieu geschieht. Vielleicht ist ein erblich veranlagtes gutes Regenerationsvermögen das Merkmal der hochresistenten Stämme, die MIHATSCH (1957) gefunden hat.

Man könnte zum Unterschied von der „Bakterienwelke“ (*C. insidiosum* McCULL., vgl. JONES und McCULLOCH 1926) und der „Luzernewelke“ (*Fusarium oxysporum* var. *medicaginis* Weim., WEIMER 1928, KLINKOWSKI und LEHMANN 1937) den nach unveröffentlichten Untersuchungen von NAUMANN (1953) vorgeschlagenen Namen „Dürrewelke“ für die oben geschilderte Erkrankung anwenden, wenn man es nicht bei der in Landwirtekreisen üblichen Bezeichnung „Luzernesterben“ bewenden lassen will.

Die Symptome der „Luzernewelke“ stimmen weitgehend mit den Symptomen unserer „Dürrewelke“ überein. Unterschiede bestehen nur in dem mehr langwierigen Verlauf der durch *Fusarium* verursachten Welke und dem plötzlichen Absterben bei der „Dürrewelke“. Über die Dürrewelke haben unter der Bezeichnung „*Verticillium*-Welke der Luzerne“ RICHTER und KLINKOWSKI (1938) berichtet, daß diese Krankheit erst kurz vor der Blüte und bei besonders warmem Wetter auftrat. An den welkenden Stengeln und auch in ihrem Inneren war nichts Auffälliges zu entdecken. NOBLE, ROBERTSON und DOWSON (1953) fanden an *verticillium*kranken Luzernepflanzen Blatt- und Stengelsymptome, die denen der „Bakterienwelke“ glichen. Die kranken Pflanzen waren teilweise im Wuchs zurückgeblieben und hatten kleine, weißliche und spröde Blätter mit starken Welkeerscheinungen. Während warmer Tage beobachteten die Autoren die auffällige Erscheinung des reversiblen Welkens. Die Blätter erschlafften aber in akropetaler Reihenfolge im Gegensatz zur „Bakterienwelke“, bei der alle Blättchen gleichzeitig in Mitleidenschaft gezogen werden. Ihre Verfärbung ging über Gelbgrün, Gelb nach Weiß vor sich, bis sie zum Schluß ganz vertrocknet waren. An Stelle des ersten, eventuell völlig abgestorbenen Stengels trieben neue, gesunde aus, an denen sich der Krankheitsverlauf wiederholte. Diese Beschreibung entspricht in vielen Einzelheiten dem Krankheitsgeschehen bei unserer „Dürrewelke“ der Luzerne.

WELTZIEN (1957) unterscheidet im südwestdeutschen Raum am Äußeren der Pflanze drei verschiedene Symptomgruppen: Gruppe 1. Die Pflanzen erkranken bereits bei mittlerer Trieblänge, so daß sich deutliches Zurückbleiben im Wachstum ergibt. Besonders die oberen Blätter sind klein und schmal, meist eingefaltet und starr schräg aufwärts gerichtet. Das Eintrocknen erfolgt von der Blattspitze unter Vergilbung und Verbräunung; Gruppe 2. Zunächst entfallen sich die grünen Blätter normal, sie rollen sich jedoch dann nach oben und innen zum Teil schraubig ein, verdorren ebenfalls und fallen schließlich ab; Gruppe 3. Besonders die unteren Blätter vergilben ohne Falten und Rollen und fallen ab.

Als Ergebnis vergleichender Betrachtungen der Stengel- und Blattsymptome bei den Welkekrankheiten der Luzerne ist festzustellen, daß die Krankheitserscheinungen an den oberirdischen Organen der Pflanze untereinander recht ähnlich sind und daß man auf Grund der Symptomatologie

unsere „Dürrewelke“ keiner der drei bekannten Welkekrankheiten der Luzerne sicher zuordnen kann. Eine Sonderstellung nimmt die „Bakterienwelke“ ein, weil bei ihr — infolge ihres Auftretens an feuchten Standorten — eigentliche Welkeerscheinungen selten zu beobachten sind; dafür stellen vermindertes Wachstum und Schmalblättrigkeit die Hauptsymptome dar, die bei der „*Fusariumwelke*“ ebenso wie bei der „*Verticilliumwelke*“ und unserer „Dürrewelke“ weniger häufig sind.

Die Wurzeln der erkrankten Pflanzen unterscheiden sich äußerlich nicht von den Wurzeln gesunder. Erst am Querschnitt durch den Wurzelhals oder die obere Wurzelpartie erkennt man hell- bis schwarzbraune Flecke im Zentralzylinder.

Diese können sowohl in den älteren Xylemteilen als auch im letzten Jahresring auftreten. Vielfach liegen die einzelnen Flecke so dicht beieinander, daß ein geschlossener brauner Ring entsteht. In solchem Falle ist gewöhnlich die ganze Pflanze abgestorben, während bei Einzelflecken oder segmentartigen Verfärbungen nur die entsprechenden, oberhalb ansetzenden Stengel in Mitleidenschaft gezogen sind.

Das gemeinsame Erscheinen der Verfärbung des Wurzelsystems und des krankhaften Zustandes der oberirdischen Teile ist nicht immer so streng gegeben. Man findet nämlich gelegentlich völlig abgewelkte Luzernepflanzen mit nur punktförmigen Verfärbungen im Zentralzylinder und andere, die bei einer ringförmigen Braunfärbung gesunde Sprosse haben. Zwischen den Extremen fanden wir viele Übergänge, wenn auch meistens, sozusagen als Regel, Übereinstimmungen zwischen dem Grad der Wurzelverfärbung und dem oberirdischen Abwelken festzustellen waren.

Schneidet man die Wurzel längs, so lassen sich die Verfärbungen als Streifen erkennen. Bei einigen Pflanzen hörte die Färbung des Holzteiles der Wurzel schon in einer Tiefe von 0,5 bis 1 cm auf, bei anderen ließen sich die braunen Streifen bis in eine Tiefe von 30 cm und mehr verfolgen.

Auch bei der „Bakterienwelke“ der Luzerne (JONES und McCULLOCH 1926) kommen Verfärbungen in der Gefäßregion der Wurzel vor, jedoch nur in der Peripherie des Holzzylinders, und ihr Farbton schwankt von gelb bis gelbbraun. NOBLE, ROBERTSON und DOWSON (1953) sprechen auch von „dark grey stained vessels“ der äußeren Holzteile, wobei sich die Färbung bis in das Kambium erstrecken kann. Dadurch werden die Flecke beim Abschälen der Rinde sichtbar.

Die Beschreibungen, die WEIMER (1928) und KLINKOWSKI und LEHMANN (1937) von den Wurzelsymptomen der *Fusarium*-Welke geben, entsprechen dem, was an dem hier zur Untersuchung stehenden Material festgestellt werden konnte. Jedoch beobachteten diese Autoren stets Übereinstimmung von Wurzelverfärbung und Welken der entsprechenden oberirdischen Pflanzenteile.

Wurzelquerschnitte *verticillium*kranker Luzernepflanzen zeigen nach RICHTER und KLINKOWSKI (1938) ringförmig angeordnete, dunkelbraune Verfärbungen der — nach ihren Abbildungen — peripheren Teile des Zentralzylinders. NOBLE, ROBERTSON und DOWSON (1953) berichten dagegen von dunkelbraunen Flecken, die sie regelmäßig in den inneren, also älteren Partien des Holzteiles kranker Luzernewurzeln sahen. Beobachtungen über den Zusammenhang zwischen Wurzelverfärbung und Abwelken entsprechender oberirdischer Triebe sind in beiden Arbeiten nicht enthalten. Die Angaben der Autoren über die Wurzelsymptome der „*Verticillium*-Welke“ sind also nicht einheitlich, stellen aber die Extreme der Erscheinungen dar, die an dem uns vorliegenden welkekranken Material zu finden waren.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß sich die Wurzelsymptome unserer „Dürrewelke“ von denen der „*Fusarium*-“ und *Verticilliumwelke*“ nicht unterscheiden, daß jedoch die „Bakterienwelke“ ganz anders geartete Ver-

färbungen in der Wurzel hervorruft, sowohl was deren Lokalisation wie deren Farbton betrifft. Deshalb kann man mit ziemlicher Sicherheit als Ursache der hier zu untersuchenden Krankheit eine Infektion mit *Corynebacterium insidiosum* ausschließen.

Die Verteilung der befallenen Pflanzen auf dem Felde ist meistens unregelmäßig, wenngleich sich immer wieder Nester welkender Luzernepflanzen feststellen ließen. Die Anhäufungen sind dann aber wahllos über die Anbaufläche verstreut. Nur einmal konnten in einem sonst gesunden Luzernefeld drei kreisförmige Krankheitsherde von beträchtlicher Größe beobachtet werden. Innerhalb dieser Herde waren sämtliche Pflanzen krank und zeigten alle die charakteristischen Merkmale. Die Grenzen der Infektionsherde waren etwas verwischt (NAUMANN 1953).

KLINKOWSKI und LEHMANN (1937) berichten, daß sich die „*Fusariumwelke*“ von einer einmal infizierten Pflanze aus radiär weiter verbreitet. Am Rande des Kreises, der völlig gewelkte und abgestorbene Stöcke enthält, befindet sich eine etwa 1 m breite „Zone der welkenden Pflanzen“.

Die Symptome der „Dürrewelke“ der Luzerne wurden bisher nur an zwei- und mehrjährigen Beständen festgestellt. Einjährige Luzerne erwies sich auch dann äußerlich als gesund, wenn ein mehrjähriger erkrankter Bestand direkt angrenzte. Nach mündlicher Mitteilung von RICHTER (1954) sollen künstliche Infektionen mit dem Wirtelpilz an jungen Pflanzen nicht angehen. Während der Vegetationsperiode nimmt die Zahl der kranken Pflanzen ständig zu. Die Gründe dürften Infektionen sein, die weit zurückliegen können und nach einer längeren Inkubationszeit sich im „Ausbruch der Krankheit“ manifestieren. Es scheint im Gegensatz zur Auffassung von RICHTER nicht ausgeschlossen zu sein, daß die Luzerne schon im ersten Jahre infiziert werden kann, daß es dann aber noch nicht zum Ausbruch der Krankheit kommt. Man muß die lange Inkubationszeit beachten, die bei den Welkekrankheiten wohl allgemein zu erwarten ist. Wenn im Laufe des Sommers trockenes warmes Wetter herrscht, stellen sich vor allem bei älterer Luzerne die verheerendsten Folgen erst Ende August oder Anfang September, d. h. vor dem dritten Schnitt ein. Später wird die Ausbildung der Symptome durch die nachlassenden Temperaturen und die zunehmenden Niederschläge eingedämmt. So ließ sich in den extrem feuchten Jahren 1954 bis 1956 ein solches Ansteigen des Krankheitsbildes im Laufe der Vegetationsperiode nicht so eindeutig nachweisen. An Hand des „Ausbruchs“ der Krankheit ist deshalb über die Häufigkeit und die zeitliche Verteilung der Infektionen nichts auszusagen.

Die in der Literatur beschriebenen drei Welkekrankheiten sind ebenfalls bei trockenem, heißen Wetter stark begünstigt, ja die „Bakterienwelke“ tritt dann als Welkekrankheit überhaupt erst in Erscheinung, wodurch sie sich von den durch Pilzen verursachten und auch von unserer „Dürrewelke“ unterscheidet, die bei anhaltend trockenem Wetter zwar verstärkt, aber prinzipiell auch bei feuchtem Wetter durch die oberirdischen Symptome erkennbar sind.

II. Zur Ätiologie und Pathologie der „Dürrewelke“

1. Nachweis des Erregers

Für die mikroskopische Untersuchung wurden Längs- und Querschnitte (Freihand) der Wurzel und des Stengels hergestellt und als gefärbte Präparate oder direkt als Frischpräparate durchgesehen. Recht gut bewährte sich die Färbemethode nach HOLZ (1936). Zum Nachweis von Pilzhypen in den Blättern und Stengeln verwendeten wir die Anilinblau-Essigsäure-Methode nach NOLL (1943).

Mit Hilfe der anatomischen Untersuchung der infizierten Pflanzen ist es möglich, sich ein genaues Bild von der Art der Wurzelverfärbung zu machen. Von der Bräunung sind vor allem die bündelweise zusammenliegenden Tracheen betroffen. Sie enthalten eine hell- bis rotbraune, durchsichtige Masse von gummöser Beschaffenheit oder eine feinkörnige, gleichfalls braun gefärbte Substanz. Die Gefäßwand ist zumeist heller getönt. Über den Ursprung und die Entstehung der Füllmassen, welche einzelne Gefäße vollständig verstopfen, läßt sich im Augenblick noch keine Aussage machen. Weiterhin sind in den Gefäßen Thyllen zu beobachten, die auf eine aktive Mitwirkung der erkrankten Pflanze am Verschuß der Tracheen schließen lassen. Neben den Gefäßen sind gelegentlich auch die Sklerenchymfasern von der Verfärbung betroffen.

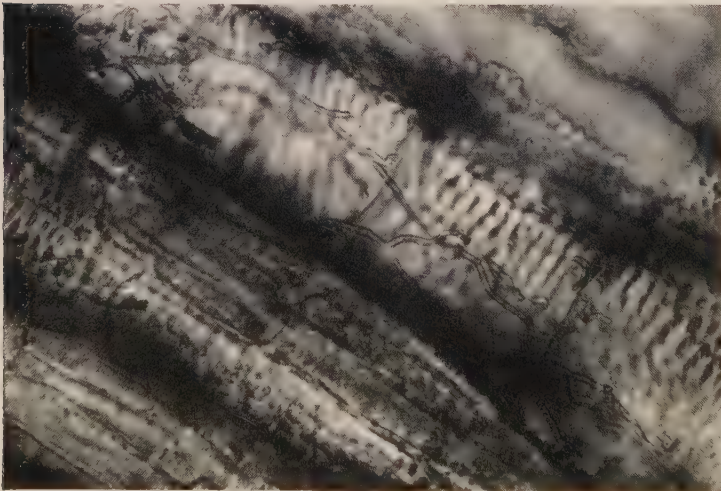


Abb. 1.
Teilbild aus
einem Längs-
schnitt durch
eine kranke
Luzernewurzel
mit teils
verknäuelten
und teils in der
Längsrichtung
einer Trachee
wachsenden
Hyphen von
*Verticillium
albo-atrum*

Bei der Untersuchung von Längsschnitten finden sich inmitten der schwächer verfärbten Tracheen — einzeln oder stellenweise auch in Knäueln — septierte Pilzhypen, die in Längsrichtung wachsen (Abb. 1). Es handelt sich dabei, wie durch Isolierungen klargestellt wurde, um Myzel des Wirtelpilzes *Verticillium albo-atrum*. In den stark dunkelbraun gefärbten, offenbar vor längerer Zeit befallenen Gefäßen ließen sich diese Hyphen niemals nachweisen. Vermutlich sind sie dort bereits einem lytischen Abbau-prozeß anheimgefallen.

Versuche, das Myzel des Wirtelpilzes im Stengel und in den Blättern nachzuweisen, wie es VAN DER LEK (1918 a) bei der Kürbisverticilliose gelang, waren lange Zeit ohne Ergebnis. Nur in wenigen Fällen gelang es, Myzel und insbesondere die typischen Mikrosklerotien in den oberirdischen Organen welkekranker Luzerne zu finden. Durch diesen Befund erscheint es uns nicht ausgeschlossen, daß die Dauerformen des Erregers in Blättern und Stengeln überwintern, die dann im nächsten Frühjahr als neue Infektionsquelle dienen.

2. Isolierung des Erregers

Krankes Pflanzenmaterial, das für die Isolierungen verwendet wurde, stammte aus einem dreijährigen Bestand sowie von einer zweijährigen Luzerne, die im Sommer 1954 zum erstenmal, aber in ziemlich starkem Ausmaß das Krankheitsbild der „Dürrewelke“ zeigte. Daneben kamen noch andere Herkünfte zur Untersuchung, u. a. ein vierjähriger, gänzlich erkrankter Bestand, der sich neben einem einjährigen, äußerlich gesunden befand.

Die Wurzeln wurden vom größten Schmutz befreit und dann mit einer Bürste unter fließendem Wasser gesäubert. Zur äußerlichen Sterilisation diente eine 0,1%ige Sublimatlösung in Einwirkungszeiten von 1 bis 10 Minuten, woran sich ein Abspülen in sterilem Wasser anschloß. Alle weiteren Arbeiten sind in einem Impfkasten vorgenommen worden.

Am besten bewährte sich das Aufreißen der Wurzeln und die Entnahme von hell- bis dunkelbraun verfärbten Gewebestücken mit einer sterilen Pinzette. Die Gewebestücke sind auf Schrägröhrchen mit Kartoffelsaft-Agar ausgelegt worden, auf deren Oberfläche zuvor unter sterilen Bedingungen je ein Tropfen Milchsäure in der Verdünnung 1:1 gegeben worden war. Hierdurch erreichten wir eine weitgehende Unterdrückung des Bakterienwachstums.

Das sich entwickelnde Myzel wurde mikroskopisch nach Wirteln und Konidien untersucht, und nur in Zweifelsfällen und zur Erhaltung des Stammes sind je zwei Gußplatten angelegt worden. Auf diesen bildeten sich nach ein bis zwei Tagen kleine „Sternchen“, welche charakteristisch für *Verticillium* sind und durch Auskeimen der Konidien und anschließende Substratmyzelbildung entstehen. Diese Kolonien wurden auf Biomalz-Agar abgeimpft und nach drei bis fünf Tagen mikroskopisch auf ihre Reinheit und morphologischen Eigentümlichkeiten untersucht. Dabei war *Verticillium* immer wieder leicht an den charakteristischen Wirteln zu erkennen.

Bei ausgesprochen kleinen, dünnen Wurzeln war das Entnehmen von Gewebestücken aus dem Inneren unmöglich. Die vorher in Sublimat äußerlich sterilisierten Wurzeln wurden daher nach dem Abwaschen in keimfreie Feuchtkammern ausgelegt und das sich bildende Myzel in der beschriebenen Weise untersucht.

Der Erreger ist im Jahre 1953 aus 285 Wurzelstücken, die von 40 kranken Luzernepflanzen stammten, isoliert worden. Nach einigen Erfahrungen ließen sich die Fremdinfectionen mit den oben angegebenen Methoden weitgehend vermeiden. Es wurden dann drei Arten von Pilzen besonders häufig gefunden:

Erstens ein Vertreter der Gattung *Fusarium*, der nicht näher bestimmt worden ist. Sein Luftmyzel ist auf Biomalz-Agar schmutzigweiß gefärbt und liegt dem Substrat sehr dicht auf. Chlamydosporen sind niemals beobachtet worden. Die in großen Mengen gebildeten Makrokonidien sind 2- bis 5fach septiert. Auch Mikrokonidien mit und ohne Querwände waren zu finden. An seinen charakteristischen grünen Schleimlagern ließ sich der Pilz leicht von den anderen unterscheiden.

Zweitens trat ein Pilz der Gattung *Verticillium* mit sehr variabler Konidiengröße auf. Das Luftmyzel war weiß, die Sporen zuerst rosa, dann schmutzig-gelb gefärbt. Vor Beginn der Myzelbildung, welche immer erst nach 4 bis 5 Tagen auftrat, konnten kleinere Schleimlager beobachtet werden, die Bakterienkolonien so täuschend ähnlich waren, daß sie anfangs auch dafür gehalten wurden, bis die mikroskopische Kontrolle ergab, daß es sich um Sporenlager (Pionnotes) handelte. Dieser Pilz unterscheidet sich von *V. albo-atrum* durch eine intensive, gelbe Verfärbung des Nährmediums und kleinere, dafür aber zahlreichere Wirtel. Er wurde nicht näher bestimmt und in den Versuchen als *Verticillium* spec. (Stamm III) geführt.

Der größte Teil der isolierten Pilzstämmen konnte jedoch als *Verticillium albo-atrum* R. et B. bestimmt werden. Sie bildeten auf Biomalz-Agar anfangs ebenfalls Pionnotes, nach 3 bis 4 Tagen zeigten sich die ersten Mikrosklerotien, und erst nach 5 bis 6 Tagen entwickelte sich Luftmyzel.

Im Jahre 1954 im September vorgenommene Isolierungen aus kranken Luzernepflanzen ergaben 66,6 % *Verticillium albo-atrum* und 16,7 % *Fusarium* spec.; die zweite Isolierung im Oktober erbrachte 25 % *V. albo-atrum* und 12,5 % *Fusarium* spec. Zur Isolierung verwendeten wir in diesem Falle 54 Luzernepflanzen mit insgesamt 210 Wurzelstücken. Die Prozentzahlen beziehen sich auf die Zahl der Pflanzen. Aus den Isolierungen ist zu ersehen, daß aus den erkrankten Pflanzen *V. albo-atrum* auf jeden Fall immer in einem höheren Prozentsatz als *Fusarium* zu isolieren ist. Fünf gesunde Pflanzen ohne Hadromverfärbungen dienten als Kontrolle. Sie enthielten Bakterien und einige saprophytische Bodenpilze, niemals aber *V. albo-atrum*.

Besonders wichtig für die Auswertung der Isolierungen und der späteren Rückisolierungen aus künstlich zu infizierenden Pflanzen ist die Frage, wann eine Pflanze als befallen gilt. Hierzu schreibt DONANDT (1932) in seiner Arbeit über die Pathogenität des Wirtelpilzes: „... Entwickelt sich das Myzel auch nur aus einer dieser Scheiben, so ist damit das Vorkommen des Parasiten in der untersuchten Pflanze erwiesen, die Pflanze ist befallen ...“ und weiter „... In dem Fall, wo sich das Myzel nur aus einer der 4 bis 6 Scheiben entwickelt“ — DONANDT isolierte den Erreger, indem er von einer erkrankten Wurzel 4 bis 6 dünne Scheibchen auf Agar auslegte — „liegt eine schwache, ungleichmäßige Verpilzung des Hadroms vor. Bei schwer befallenen Pflanzen ist der Bewuchs auf allen Stücken stark und gleichmäßig ... Auch die Zeitspanne, bis die Myzelpolster auf den Scheiben mit bloßem Auge sichtbar werden, ist bezeichnend. Je mehr Gefäße verpilzt sind, desto größer ist die Zahl der Ausgangspunkte des Pilzwachstums auf den Agarplatten und desto eher erreicht die Entwicklung die Grenzen der makroskopischen Sichtbarkeit ...“

Bemerkenswert ist, daß wir bei der Isolierung aus dunkelgefärbten Wurzelstücken zeitweilig Nematoden fanden. Später hat PAESLER (1956) unsere Beobachtungen am gleichen Material bestätigt und die Älchen als *Panaqroleimus rigidus* A. Schneider, *Diploscapter coronata* Cobb. und *Aphelenchoides* spec. bestimmt.

Ein besonderes Anschwellen am Stengelgrunde und Braunfärbung konnten wir nicht beobachten. Ebenso wurden keine verdickten Triebspitzen von gelblicher Farbe und ver-

krüppelte, bisweilen schuppenförmige Blätter, wie KLINKOWSKI und LEHMANN (1937) für Älchenbefall angeben, festgestellt. Jedoch könnten Älchen als Vektoren in Frage kommen oder durch Beschädigung der Wurzelepidermis Eingangspforten für den Pilz schaffen.

3. Infektionsversuche

Gesundes Pflanzenmaterial für die Infektionsversuche wurde aus Samen herangezogen. Außer einem Sortengemisch sind dazu die Sorten „Pegauer“ und „Ranger“ benutzt worden. Letztere ist gegen die Bakterienwelke der Luzerne resistent (KÖNEKAMP 1949). Weiter konnte eine große Zahl von gesunden Pflanzen für Infektionszwecke dadurch gewonnen werden, daß abgeschnittene Sprosse junger Luzernepflanzen, die sich im Laufe von 14 Tagen in Leitungswasser kräftig bewurzeln, in Komposterde eingetopft wurden. Man erhält auf diese Weise recht kräftige Pflanzen mit vier bis fünf Nebentrieben.

Für Feldversuche benutzten wir einen isoliert gelegenen Luzernebestand, dessen Pflanzen alle zu Versuchsbeginn gesund waren. Erst während des Sommers zeigten einige wenige Sprosse das typische Welkebild. Eine Gefährdung für das Versuchsergebnis lag aber wegen der geringen Zahl der natürlichen Infektionen nicht vor.

Falls nicht anders angegeben, sind die Infektionsversuche an Topfpflanzen im Freiland durchgeführt worden.

Für die künstlichen Infektionen wurden folgende Pilzstämme verwendet, die im Labor auf dem gewöhnlichen Biomalz-Agar oder Kartoffelsaft-Agar (GERLACH 1954) kultiviert wurden:

Bezeichnung im Versuch	Pilzstamm	Herkunft
I	<i>Verticillium albo-atrum</i> R. et B.	isoliert aus welkekranker Luzerne, Naumburg 1953
II	<i>Verticillium albo-atrum</i> R. et B.	isoliert aus welkekranker Luzerne, Edinburgh (England) 1954, ROBERTSON ¹⁾
III	<i>Verticillium spec.</i>	isoliert aus welkekranker Luzerne, Naumburg 1953
IV	<i>Verticillium albo-atrum</i> R. et B.	isoliert aus <i>Lupinus albus</i> (welkeverdächtig), Landsberg 1941, RICHTER ¹⁾ (Stamm Nr. 7198)
V	<i>Verticillium albo-atrum</i> R. et B.	isoliert aus welkekranker Luzerne, Berlin-Dahlem 1938, RICHTER ¹⁾ (Stamm Nr. 7197)
VI	<i>Fusarium spec.</i>	isoliert aus welkekranker Luzerne, Naumburg 1953

¹⁾ Herrn Prof. Dr. RICHTER, Berlin-Dahlem, Herrn Dr. ROBERTSON, Cambridge, und Herrn Dr. NAUMANN, Aschersleben, sei hier nochmals bestens für die freundliche Überlassung von Stämmen gedankt.

Die künstliche Infektion soll den natürlichen Bedingungen möglichst entsprechen. Trotzdem wird sie stets einen gewaltsamen Eingriff in den Lebensprozeß der Pflanze, aber auch des Parasiten darstellen. Der Übergang des Parasiten in das Gewebe und in den Lebensprozeß seines Wirtes muß schnell und ungestört vor sich gehen. Wir gingen deshalb bei unseren Versuchen verschiedene Wege, um die Unsicherheit, die einer künstlichen Infektion stets innewohnt, von vornherein möglichst niedrig zu halten.

Bei den Untersuchungen sind folgende Infektionsmethoden benutzt worden:

a) Eine von NOBLE, ROBERTSON und DOWSON (1953) angegebene Methode der Bodeninfektion mit Maismehl-Sand-Kulturen der Parasiten erwies sich als sehr geeignet. Das mit Sporensuspension beimpfte Mais-Sand-Gemisch (3 % Maiskleie) war nach acht bis zehn Tagen gut mit Myzel durchwachsen. Komposterde wurde im Verhältnis 3 : 1 mit diesen Kulturen gemischt und die Pflanzen in diese beimpfte Erde eingetopft.

b) Es wurden Pflanzen nach einer Methode von RICHTER und KLINKOWSKI (1938) durch Eintauchen der Wurzeln in eine Lehm-brei-Sporensuspension infiziert (NAUMANN 1953).

c) Für eine Wundinfektion mit Sporensuspension ist der obere Teil der Wurzel freigelegt und von Erde gesäubert worden. Die Infektionsstelle wurde mit 70%igem Alkohol äußerlich desinfiziert. Die jeweilige Sporensuspension impften wir dann mit einer abgeflamten Injektionskanüle unter die Wurzelrinde. Danach wurde die Wunde mit steriler Watte abgedeckt und die Erde wieder fest angedrückt, um ein Austrocknen zu vermeiden.

d) Wundinfektionen mit Myzel sind entsprechend ausgeführt worden. Mit einem desinfizierten Skalpell setzten wir auf der Wurzelrinde einen T-Schnitt und brachten das Inokulum, einer sklerotienreichen Agarkultur entnommen, unter die zurückgeklappten Rindenlappen.

e) Weiter wurden Pflanzen durch Eintauchen der Wurzeln in eine wäßrige Sporensuspension infiziert. Einen Teil der Pflanzen topften wir nach dieser Behandlung sofort ein, während ein anderer Teil 48 Stunden in einer Feuchtkammer zum Auskeimen der Sporen und zur Myzelbildung verblieb, um danach erst in gedämpfte Komposterde eingetopft zu werden. In Abänderung dieser Methode wurden

f) in einem anderen Versuch die Wurzeln vor dem Eintauchen in die Sporensuspension beschädigt. Für beide Methoden verwendeten wir nur in Wasser bewurzelte Sprosse.

g) Schließlich sind noch eingetopfte Pflanzen durch einfaches Gießen mit Sporensuspension infiziert worden (NAUMANN 1953).

Bei der Bewertung der Infektionsergebnisse mußten wir uns über folgende Frage klarwerden: Wann gilt eine Pflanze als krank und die Infektion als manifest? Am natürlichsten wäre es, die Frage mit dem Vorhandensein oder Fehlen der äußeren Krankheitssymptome zu beantworten. Bei den kranken Pflanzen auf dem Feld finden sich jedoch alle Übergänge, die als schnell aufeinanderfolgendes Welken, Blattwerfen und Sterben bemerkbar werden, bis zu einer schleichenden Form ohne ausgeprägte äußere Symptome. Es konnte z. B. eine starke Gefäßbräune in der Wurzel auch bei äußerlich gesunder Luzerne beobachtet werden und vice versa. Es erschien deshalb richtig, eine Pflanze auch dann als krank anzusehen, wenn nur die mikroskopische Untersuchung des Gewebes bzw. die Isolierung positiv ausfielen, aber keine äußeren Anzeichen der Krankheit beobachtet werden konnten. Zweifellos handelt es sich hier um eine Infektionskrankheit; die Symptombildung ist aber bezüglich ihrer Geschwindigkeit und Stärke sehr von Umwelt- und Witterungsverhältnissen abhängig.

Die Versuche mit künstlichen Infektionen nach den oben angegebenen Methoden hatten die folgenden Ergebnisse:

a) Bei den Versuchen mit Mais-Sand-Kulturen der *Verticillium*-Stämme I, III, IV und V sind folgende Fraktionen angesetzt worden:

Stamm I	am	2. 6. 1954	25 Pflanzen	(1 Monat alt)
"	III	" 22. 5. 1954	25 "	(3 Monate alt)
"	IV	" 23. 6. 1954	25 "	(1 Monat alt)
"	V	" 22. 5. 1954	25 "	(3 Monate alt)

Als Kontrollen dienten je Versuch fünf Pflanzen, deren Erde mit einem sterilen Mais-Sand-Substrat gemischt wurde sowie zehn unbehandelte Pflanzen.

Beim Versuch mit Stamm I waren nach neun Wochen noch alle Pflanzen äußerlich gesund. Am 7. 10. 54 wurden 15 Pflanzen zur Rückisolierung entnommen. Obwohl die Sprosse noch keine Symptome aufwiesen, zeigten die Wurzeln im Querschnitt bereits die typischen braunen Verfärbungen, allerdings noch in schwacher, punktförmiger Verteilung. Von den daraus isolierten Pilzen waren 33,3 % *Verticillium albo-atrum* (Stamm I) und 16,7 % verschiedene *Fusarien*. Die übrigen Pilze bestimmten wir nicht näher, da sie wohl in der Hauptsache Fremd- oder Sekundärinfektionen darstellten. Die Kontrollpflanzen sahen äußerlich und im Wurzelquerschnitt alle gesund aus und ergaben bei Isolierungen in keinem Falle *V. albo-atrum*.

Die mit Stamm III infizierten Luzernepflanzen zeigten nach neun Wochen ebenfalls keine Krankheitssymptome. Die meisten Wurzeln wiesen keine Verfärbung auf und trotzdem konnte *V. spec.* (Stamm III) aus 50 % der Pflanzen rückisoliert werden. Es ist erstaunlich, daß bei diesem hohen Prozentsatz gelungener Infektionen keine Pflanze erkrankt war. Man könnte das auf die zur Versuchszeit herrschenden extremen Witterungsbedingungen zurückführen (BAUMANN 1954). Bei Stamm III ist aber vermutlich noch etwas Besonderes im Spiele. Er ist für die Luzerne mehr Parasit und weniger zerstörender Krankheitserreger, was ja auch ein Pflanzenparasit nicht immer zu sein braucht.

Bei den Infektionen mit Stamm IV und V zeigten sich nach vier Monaten weder Sproß- noch Wurzelsymptome. Es ist zu beachten, daß Stamm IV nicht von kranker Luzerne isoliert worden war und deshalb vielleicht gar kein Parasit für die Luzerne ist, während Stamm V schon bei den Vorversuchen nur ganz schwache pathologische Erscheinungen bewirkte. Vielleicht hat er seine Pathogenität im Laufe der Jahre (1938 bereits isoliert) auf den künstlichen Nährböden und bei der Thermostatenkultur eingebüßt, wofür es an Beispielen in der Literatur nicht mangelt (ZOGG 1957).

b) Bei der Infektion mit Lehm- oder Sporensuspension zeigte es sich, daß auch die Kontrollpflanzen vorübergehend pathologische Erscheinungen, wie das Absterben ganzer Stengel aufwiesen, was auf eine Behinderung der Wasseraufnahme durch die Lehmschicht zurückzuführen war. Interessant ist, daß alle infizierten Luzernewurzeln (100 %) einen typischen braunen Gefäßring erkennen ließen, während die Wurzeln der wegen anderer Ursachen abgewelkten Kontrollpflanzen noch völlig intakte Gefäße hatten. Außerdem begannen die geschädigten Kontrollpflanzen nach einiger Zeit wieder kräftige neue Stengel zu bilden, was die infizierten erkrankten Pflanzen nicht mehr taten. Rückisolierungen konnten bei diesem Versuch nicht unternommen werden.

c) 25 Pflanzen (18 Monate alt) sind mit Stamm I infiziert worden. Als Kontrollen dienten fünf Pflanzen, die mit steriler Injektionskanüle angestochen wurden, sowie fünf Pflanzen, die unbehandelt blieben. Bei diesem Versuch welkten die alten Triebe nach zehn Wochen, während die jungen

noch gesund aussahen. Bei der Rückisolierung zeigte sich im Wurzelquerschnitt, daß meist nur ein Segment des Holzteiles braun gefärbt war, entsprechend waren dann nur ein bis zwei Triebe welk. Nur in einem Falle konnten wir vollständige Welke, verbunden mit Ringbräune, beobachten. Von 22 zur Rückisolierung verwendeten Pflanzen enthielten 15 den Erreger (Stamm I). Kontrollen, steril behandelte wie unbehandelte, zeigten keinerlei krankhafte Symptome, und *V. albo-atrum* trat niemals auf. Dagegen fand sich immer wieder *Fusarium* spec. Das häufige Vorkommen dieses Pilzes auch bei den Isolierungen aus natürlich erkrankten Pflanzen spricht dafür, daß *Fusarium* spec. ein harmloser Wurzelbewohner der Luzerne ist und vielleicht als Sekundärinfekt in der Folge einer *Verticillium*-Infektion häufiger auftritt.

d) Mit den Stämmen I und III wurden auf dem Felde je 15 Pflanzen durch Wundinfektion mit Myzel beimpft. 15 steril behandelte sowie 15 unbehandelte dienten als Kontrolle. Von den mit Stamm I infizierten Pflanzen erkrankten 14 nach vier Monaten, während alle mit Stamm III infizierten Pflanzen sowie die Kontrollen völlig gesund blieben. Ein weiterer Versuch mit dieser Methode hatte zum Ziel, einen etwaigen Unterschied in der Pathogenität bzw. der Aggressivität zwischen den *Verticillium*-Stämmen I und V festzustellen. Je 15 Pflanzen wurden infiziert und 15 dienten als Kontrolle. Die Pflanzen standen während der Versuchsdauer im Gewächshaus. Die mit Stamm I infizierten Pflanzen erkrankten wiederum zu 100 %, während Stamm V nach sechs Wochen nur an 9 der 15 infizierten Pflanzen typische Symptome verursacht hatte. Die Rückisolierungen mußten bei beiden Versuchen unterbleiben.

e) Durch Eintauchen in Sporensuspensionen sind je 15 Pflanzen mit den *Verticillium*-Stämmen I, III und IV und vergleichsweise mit *Fusarium* spec. (Stamm VI) infiziert worden. Die Sporendichte betrug bei allen vier Stämmen etwa 2 Mill. Sporen pro ml. Neben den 25 unbehandelten Kontrollen kamen zehn Pflanzen, die nur in steriles Wasser getaucht und dann wie die infizierten Pflanzen weiterbehandelt wurden, zur Beobachtung. Sieben der mit Stamm I infizierten Pflanzen wiesen in der Wurzel Braunfärbungen auf, die bei den mit anderen Stämmen infizierten nicht zu finden waren. Äußere Krankheitssymptome waren bei keiner einzigen Pflanze dieser Versuchsreihe festzustellen. Stamm I konnte aber zu 50 % aus den Pflanzen rückisoliert werden, Stamm IV nur zu 20 %, während die anderen Stämme nicht mehr rückzuisolieren waren.

f) Von den Pflanzen, deren Wurzeln vor dem Eintauchen in Sporensuspension verwundet worden waren, konnte Stamm I wiederum zu 50 % rückisoliert werden, dagegen Stamm IV nur zu 11,1 %. Äußere Krankheitssymptome fehlten auch in diesem Falle. Mit *Fusarium* spec. (VI) ist in diesem Versuch nicht infiziert worden. Bei den Rückisolierungen fehlte *Fusarium* als Fremdinfection.

g) Im November 1954 trat an eingetopften Luzernepflanzen, die schon im Herbst des Vorjahres durch Begießen mit einer Sporensuspension von

V. albo-atrum (Stamm I) infiziert worden waren, das typische Bild der Dürrewelke in Erscheinung. Während des ganzen Sommers waren die Pflanzen äußerlich gesund. Erst nach dem dritten Schnitt im Oktober wurden plötzlich mehrere Pflanzen zu gleicher Zeit welk. Mehr und mehr machte sich dann im Laufe der nächsten acht Tage das typische Bild, wie es auf dem Felde an natürlich erkrankten Pflanzen zu beobachten ist, bei allen Pflanzen bemerkbar. Die Rückisolierung ergab den eingebrachten *Verticillium*-Stamm I zu 88,9 % und *Fusarium spec.* zu 44,4 %. Die Zahl der Fremdinfectionen durch Bakterien war recht hoch. Wir sortierten die Pflanzen, ehe sie zur Rückisolierung verwendet wurden, nach den verschiedenen Symptomen, um einen Überblick darüber zu erhalten, ob bei stärker ausgeprägten Krankheitserscheinungen *Verticillium* in einem höheren Prozentsatz rückzuisolieren ist.

Die Tabelle 1 zeigt, daß bei zunehmendem Welkegrad und der damit auch stärker werdenden Gefäßbräune der Befall mit *Verticillium albo-atrum* tatsächlich, wie erwartet, stärker ist.

Tabelle 1

Die Beziehungen zwischen dem Grad der Sproß- und Wurzelsymptome und der Häufigkeit der zu isolierenden *Verticillien*

Symptome	Anzahl der Wurzelstücke	<i>Verticillium albo-atrum</i>	<i>Fusarium spec.</i>	Bakterien
Nur ein Sproß welk; Wurzel ohne braune Punkte und Segmente	51	6	2	36
Mehrere Sprosse welk; Wurzel mit braunen Segmenten	54	24	2	41
Ganze Pflanze welk; Wurzel mit ringförmiger Verbräunung	54	39	3	41

Aus den Ergebnissen der künstlichen Infektionen ist zu erkennen, daß *Verticillium albo-atrum* (Stamm I) der Erreger einer Welkekrankheit der Luzerne sein kann. Ein anderer, ebenfalls aus kranker Luzerne isolierter *Verticillium*-Stamm (*V. spec.*, Stamm III) war in die Luzernepflanzen eingedrungen und breitete sich auch in ihnen aus, rief aber keine Krankheits-symptome hervor. Auch die beiden anderen Stämme von *V. albo-atrum* (IV und V, aus Berlin-Dahlem) konnten zwar in einigen Fällen in die Luzerne-wurzel eindringen, verursachten aber keine oder nur geringe Schäden. Dabei ist wieder daran zu erinnern, daß Stamm IV von Lupinen isoliert worden war und deshalb als Parasit der Luzerne eventuell von vornherein ausschaltet. Was den Stamm V betrifft, so stammt er zwar von Luzerne, befindet sich aber wie Stamm IV seit 1938 in künstlicher Kultur, wobei vielleicht ein nichtpathogener Stamm selektiert worden ist. *Fusarium spec.* (Stamm VI),

der bei den Isolierungen verhältnismäßig häufig auftrat, scheidet nach den Ergebnissen der Infektionsversuche auf jeden Fall als Erreger der Dürre-
welke aus.

4. Zur Frage der Infektionsquelle

Nach Angaben mehrerer Autoren (VAN DER LEK 1919, WILHELM und FERGUSON 1953) ist *Verticillium albo-atrum* im Boden weit verbreitet. Die oberen Bodenschichten sind dabei nach WILHELM (1949, 1950 a) drei- bis viermal stärker verseucht als die tieferen Horizonte. Diese vertikale Verbreitung scheint aber nicht unmittelbar mit der Wurzeldurchdringung in Beziehung zu stehen.

Die Überdauerungsfähigkeit des Wirtelpilzes im Boden ist zweifellos groß. WILHELM und FERGUSON (1953) konnten den Pilz acht Jahre lang an demselben Fundort feststellen. Sie nehmen an, daß die Sklerotien gegen schwankende Temperaturen und Austrocknung unempfindlich sind. Dennoch vertritt man heute die Meinung, daß *Verticillium albo-atrum* ein rein wurzelbewohnender Pilz ist, da er sechs Monate nach der Infektion von alten Tomatenpflanzen aus der Erde nicht mehr zu isolieren war, während *Verticillium nigrescens* und *V. nubilum* in etwas weiterer Entfernung von der in den Boden eingebrachten Ausgangskultur angetroffen wurden (ISAAC 1953 a). Für die Verbreitung des Krankheitserregers hat sein saprophytisches Wachstum im Boden keine Bedeutung. Die Ausbreitung geht durch Wurzelkontakt vor sich (ISAAC 1953 b).

Nach eigenen, lediglich orientierenden und nicht weiter ausgebauten Versuchen scheint die Möglichkeit zu bestehen, daß Actinomyceten des Bodens als Antibionten von *Verticillium albo-atrum* auftreten und der Ausbreitung des Wirtelpilzes entgegenstehen. Es scheint nicht unwesentlich, dieser Frage in weiteren Versuchen nachzugehen. Dabei müßte bei den sich saprophytisch ausbreitenden *Verticillium*-Arten, wie *V. nigrescens* und *V. nubilum*, eine entsprechend geringere Hemmung durch Bodenactinomyceten zu beobachten sein.

Es ist nicht leicht, die Frage zu beantworten, ob *V. albo-atrum* im Boden leben oder überdauern sowie vom Boden aus die Luzerne angreifen kann. Man kann es nur nachweisen, wenn man den Boden selbst als Substrat benutzt. Wie SKOLAUE und WARTENBERG (1956) gezeigt haben, kann man aus Erfahrungen, die mit dem Antibiose-Test gewonnen werden, auch dann nicht über die Verhältnisse im Boden urteilen, wenn der Testorganismus und der Antibiont aus demselben Boden isoliert worden sind.

Nicht von der Hand zu weisen wäre nach den eigenen Befunden auch die Ausbreitung des Erregers durch Mikrosklerotien, die in den oberirdischen Teilen der befallenen Pflanze gebildet werden. Die Beobachtung, daß auf einem befallenen Luzernefeld die Ausbreitung von mehreren Infektionszentren nach allen Seiten gleichmäßig vor sich gehen kann, spricht jedoch eher für die von ISAAC (1953 b) vertretene Anschauung der Ausbreitung durch Wurzelkontakt. Vielleicht spielen bodenbewohnende Insekten und Würmer (Nematoden) als Vektoren eine Rolle.

Viele Autoren stellten fest, daß die *Verticillium*-Welke besonders in Böden mit hohem Gehalt an organischen Stoffen vorkommt und daß die Krankheit durch Zugabe von organischen Substanzen begünstigt wird (PRESLEY 1950, WILHELM 1950 b, 1951 a und b). GARRET (1950) schließt daraus, daß der Wirtelpilz ein Organismus ist, der einen hohen Gehalt an organischen Substanzen und eine relativ hohe cH^+ des Bodens verlangt. Andererseits muß betont werden, daß es noch nicht möglich ist auszusagen, inwieweit eine physiologische Schwächung der Luzernepflanzen der Infektion förderlich ist. Jedoch ist sicher, daß die Prädisposition des Wirtsorganismus (im Sinne von SORAUER) auch bei der „Dürrewelke“ große Bedeutung hat.

Nicht zuletzt ist dabei auch an äußere Verletzungen der Wurzel durch Frostrisse, Tierfraß oder mechanische Beschädigungen infolge von Kulturmaßnahmen zu denken, weil auf diese Weise ideale Eintrittspforten für den Pilz geschaffen werden.

III. Welketoxine bei *Verticillium albo-atrum*

Die Dürrewelke der Luzerne ist eine echte Welkekrankheit. Darunter versteht man nach GÄUMANN und JAAG (1946) Infektionskrankheiten, „die durch bestimmte parasitische Pilze, seltener durch Bakterien oder Viren verursacht werden und mit einem welkeähnlichen Zusammenbruch der befallenen Individuen enden.“ Das parasitäre Leben der Erreger ist auf den Stengelgrund, auf den Wurzelhals und die Wurzeln der befallenen Pflanzen lokalisiert. Hier ist der Parasit besonders in den Gefäßen zu finden, woher auch der Name Tracheomykosen für die pilzlich verursachten Welkekrankheiten rührt. Die Krankheitssymptome werden vor allem am Laubwerk manifest, also in beträchtlicher Entfernung vom erregenden Organismus. Und hier liegt das interessante Problem bei allen Welkekrankheiten — einbegriffen unsere Dürrewelke der Luzerne; das Welken ist nämlich nicht etwa auf einen bloßen physikalischen Wassermangel zurückzuführen, denn die Untersuchung ergibt in jedem Falle genügend vorhandenes Bodenwasser. Es hat vielmehr schwerwiegendere, toxische Ursachen, für die der Parasit verantwortlich zu machen ist. Diese Ursachen bei der Dürrewelke zu untersuchen, war die Aufgabe des letzten Teiles der vorliegenden Arbeit.

Die ersten Bemerkungen über eine toxische Ursache des Welkephänomens *Verticillium*-befallener Pflanzen finden sich bei RANKIN (1910), APPEL und SCHLUMBERGER (1911), LAWRENCE (1912) und VAN DER LEK (1918 a und b, 1919). BEWLEY (1922) konnte eine phytotoxische Substanz in Flüssigkeitskulturen des Pilzes nachweisen. Ähnliche Versuche führte DOWSON (1922, 1923) mit einem aus *Bellis perennis* L. isolierten *V. albo-atrum* durch. Aus seinen Ergebnissen schloß er auf ein Exotoxin, das der Pilz in sein Medium absondert. Auch PICADO (1923) fand an Kartoffel- und Bohnensprossen, die er in ein 30 Tage altes Kulturfiltrat des Wirtelpilzes stellte, Welke- und Bräunungserscheinungen. Da das erhitzte Filtrat nur noch Bräunungserscheinungen hervorrief, nahm er das Vorhandensein von zwei Exotoxinen an. Ferner sollte auch noch ein thermostabiles, aus Myzel extrahierbares Endotoxin vorhanden sein. Nach den Untersuchungen von PICADO kann man annehmen, daß die Symptome *Verticillium*-kranker Pflanzen durch ein aktiv vom Pilz sezerniertes Toxin und durch ein Toxin, das aus dem passiven Zerfall des Myzels stammt, verursacht werden können.

J. DUFRÉNOY und M. L. DUFRÉNOY (1927) und J. DUFRÉNOY (1927, 1928) nehmen an, daß der Pilz Nitrate zu Nitriten reduziert. Diese Nitrite sollen nach ihrer Meinung für die Welkesymptome verantwortlich sein, wie an Modellversuchen mit 1%igen Nitrat- und Nitritlösungen nachzuweisen versucht wurde. Auch BORDAS und JOËSSEL (1928) schrieben dem Pilz eine stark reduzierende Wirkung zu. Unter den Reduktionsprodukten sollen sich Nitrite befinden, die für die Welke verantwortlich sein könnten. Ähnliches stellte ROSEN (1926) für Fusarien fest, die Welkeerscheinungen an Baumwollsprossen hervorgerufen.

LABROUSSE und SARÉJANNI (1930) lehnen dagegen jede Beziehung zwischen den reduzierenden Fähigkeiten der Pilze und der Auslösung der Welkesymptome durch Nitrite ab. Sie konnten in Reinkulturen zwar ebenfalls geringe Mengen von Nitrit nachweisen, doch weisen sie darauf hin, daß das bei allen Pilzen möglich sei, die im Laufe ihrer Entwicklung ihr Nährmedium alkalisieren. Die geringen Mengen seien zudem nach drei Wochen verschwunden. Auch VAN DER VEEN (1930) lehnt die Theorie einer Schädigung der Wirtspflanze durch Nitrite, die der Erreger bildet, ab. Es findet in Reinkultur zwar tatsächlich eine Nitritbildung statt, die äquivalent mit einer 0,001- bis 0,002%igen NaNO_2 -Lösung und auch längere Zeit nachzuweisen ist. Die Empfindlichkeit des Pilzes gegen dieses Gift — in 0,03%iger Lösung erfolgt keine Sporenkeimung mehr — ist aber viel größer als die der Testtomaten, die eine Konzentration von 0,25 % in der Nährlösung 14 Tage ohne Schädigung ertragen.

DONANDT (1932), der die Pathogenität des Wirtelpilzes an verschiedenen Holz- und krautigen Gewächsen untersuchte, spricht sich für ein Zusammenwirken einer mechanischen Störung des Saftstromes durch Verpilzung der Gefäße und einer Giftwirkung des Parasiten aus. Die mechanische Störung soll allerdings nur „bei lebhafter Transpiration, also bei einer stärkeren Beanspruchung der Gefäße eintreten und bei geringer Verdunstung und dementsprechend geringem Wasseraufstieg unterbleiben“. Das Zusammenwirken der mechanischen Störung und des Toxins soll „in Verbindung mit den wechselnden Faktoren der Umwelt das Krankheitsbild in seiner großen Veränderlichkeit und Mannigfaltigkeit bestimmen“.

In neuerer Zeit ist von NELSON (1950) über die Bildung eines Toxins *in vitro* bei *V. albo-atrum*, das aus Pfefferminze isoliert wurde, berichtet worden. Die Wirkung des Toxins soll lichtabhängig sein, denn er fand, daß Testsprosse in einem sonst aktiven Kulturfiltrat nicht welkten, wenn sie in der Dunkelheit gehalten wurden oder wenn die Flaschen, die die Toxinlösung enthielten, mit lichtundurchlässigem Papier verdunkelt wurden. Eine photochemische Reaktion konnte er aber nicht nachweisen.

NAUMANN (1953) fand, daß Kulturfiltrate verschiedener *Verticillium*-Stämme, die aus welkekranker Luzerne isoliert wurden, an Tomatensprossen Welkeerscheinungen verursachen.

In neuester Zeit wendet sich wieder GREEN (1954 a) gegen die Nitrittheorie. Er arbeitete mit Gefäßsaft erkrankter Pflanzen. Die kolorimetrische Bestimmung ergab nach 20 Tagen keinen deutlich sichtbaren Unterschied zwischen der Nitritmenge im Saftstrom gesunder und infizierter Pflanzen. Tomatensprosse, die in Gefäßsaft erkrankter Pflanzen eingestellt wurden, blieben gesund. Eine Anhäufung von Nitriten des Pilzes in der Kulturlösung trat vorübergehend auf, fiel jedoch nicht mit der maximalen Welkeaktivität des Kulturfiltrates zusammen.

Aus einer weiteren Veröffentlichung von GREEN (1954 b) geht hervor, daß sich bei *V. albo-atrum* *in vitro* zwei verschiedene toxische Fraktionen finden, die unterschiedliche Wirkungen entfalten. Es soll sich um einen Stoff mit Eiweißcharakter und um ein Polysaccharid handeln, die beide als autolytische Nebenprodukte des pilzlichen Stoffwechsels aufgefaßt werden.

Verticillium dahliae, der Erreger einer Welke der Baumwolle, bildet auf pektinhaltigen Nährböden reichlich Pectinase. Das betreffende Kulturfiltrat schädigt Parenchymzellen von Kartoffelknollen in erheblichem Maße und verfärbt die Gefäße eingestellter Baumwollsprosse. Diese Fähigkeiten des Filtrates erweisen sich aber als nicht kochbeständig. Dafür existiert aber noch ein weiteres Agens im Filtrat, das thermostabil ist und Welken an den Baumwollsprossen hervorbringt (KAMAL und WOOD 1955).

SCHEFFER, GOTHOSKAR, PIERSON und COLLINS (1956) veröffentlichten in jüngster Zeit Befunde, aus denen hervorgeht, daß der Wirtelpilz Polygalacturonase in seine Kulturflüssigkeit absondert. Hierauf begründeten die Autoren ihre Meinung, daß die Krankheits-symptome der Verticilliosen infolge Gefäßverstopfung durch visköse oder gelartige Spaltprodukte von Pektinen aus den Zellwänden zustande kommen. Eine besondere Rolle scheint bei der untersuchten Verticilliose der Tomate die Blockierung der Wasserzufuhr in den Blattstengeln zu spielen. Von den Gefäßen des Hauptsprosses waren nicht mehr als ein Drittel blockiert. In der Kulturflüssigkeit fanden die Autoren einen hitzelabilen Stoff, der eine Bräunung der Gefäße hervorrief.

Für unsere Untersuchungen haben wir die Stämme I, II, IV und V benutzt. Stamm III ist ausgelassen worden, da durch die Infektionsversuche feststand, daß er keinerlei maligne Wirkung erzielt.

Zunächst galt es, eine Nährlösung zu finden, die einerseits dem Pilz optimale Möglichkeiten zum Wachstum sowie zur Toxinbildung bot, andererseits aber ein Minimum an schädigender Wirkung für die Testpflanzen hatte. Es wurden von 19 aus der Literatur ausgewählten Nährlösungen 12, die hinsichtlich der Zusammensetzung ihrer Bestandteile sowie ihrer cH^+ -Werte und der Art der Pufferung variierten, für die Versuche herangezogen. Dadurch war die Möglichkeit gegeben, eine oder mehrere Lösungen zu finden, die den oben geforderten Bedingungen entsprachen. In der Tabelle II sind diese 19 Nährlösungen zusammengestellt, denn es wurde als großer Mangel empfunden, daß die Angaben über Pilznährlösungen sich in der Literatur nur sehr zerstreut fanden und daß keine größere zusammenfassende Übersicht vorhanden war, die einen Vergleich der Salzkonzentrationen, der einzelnen Ionen usw. gestattete. Diese Lücke auszufüllen ist das Ziel der Veröffentlichung unserer Tabelle.

Je 100 ml Nährlösung sind in 300-ml-Erlenmeyer-Kolben einpipettiert worden; die Sterilisation erfolgte nach Verschuß mit Wattestopfen in der üblichen Weise bei 120 °C im Autoklaven. Beimpft wurden die Kölbchen mit 1 ml einer Sporensuspension, die durch Abschütteln von Schrägkulturen gewonnen wurde. Je Stamm und Nährlösung sind dann sechs Kolben bei 24 °C im Brutschrank bebrütet worden. In Abständen von acht Tagen erfolgte die Bewertung des Wachstums nach der Bildung von Submersmyzel und Oberflächendecke.

Nach 21 Tagen sind die Kolben dem Thermostaten entnommen und die Kulturflüssigkeiten mittels Filtration durch doppeltes Filtrierpapier und Glaswatte vom Myzel getrennt worden. Das Wachstum wurde lediglich nach dem Augenschein beurteilt und ist in Tabelle 3 wiedergegeben.

Die Kulturfiltrate kamen in der Verdünnungsreihe 1:1, 1:2, 1:4 und 1:8 zum Welketest. Als Testmaterial dienten in den ersten Versuchen abgeschnittene Luzerne- und Tomatensprosse. Die Verwendung von Luzerne ist später unterlassen worden, da die Triebe mit zu unklaren Symptomen reagierten, die aber immerhin oft in verblüffender Weise denen der natürlich erkrankten Pflanze auf dem Felde glichen. Zur Verwendung von Tomaten als Testpflanzen war man berechtigt, weil der Welkepilz der Luzerne nach einer mündlichen Mitteilung von RICHTER (1954) auch für Tomaten stark pathogen ist. Da einzelne abgeschnittene Fiederblätter von Tomaten genauso wie ganze Sprosse oder sogar noch stärker auf die Toxine der Kulturfiltrate ansprachen, sind für weitere Versuche hauptsächlich Fiederblätter verwendet worden. Dabei war aber bei der Ernte des Testmaterials besonderer Wert darauf zu legen, daß die Pflanzen gleichaltrig waren (sechs bis acht Wochen) und die Blätter in etwa gleicher Höhe (drittes bis viertes entfaltetes Fiederblatt) entnommen wurden, um physiologisch möglichst gleichwertiges Material zu erhalten (GRÜMMER 1955). Die Blätter kamen nach dem Abschneiden rasch in Leitungswasser und standen zunächst sechs bis acht Stunden zur Akklimatisation im Versuchsraum. Als

Tabelle 2
Zusammenstellung verschiedener Pilznährlösungen

Substanzen (Angaben in g bzw. ml)	Die Lösungen. Autoren und Bezeichnung im Versuch.									
	BLUMER	CZAPEK- DOX	Melasse- CZAPEK- DOX	CZAPEK- THOM	HAYDUCK	HENNE- BERG I	HENNE- BERG II	HENNE- BERG III	HENNE- BERG IV	HENNE- BERG V
	H	G	A	F	K	L	M	N	O	T
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
KNO_3	0,5	—	—	2,0	—	2,0	2,0	—	—	—
NaNO_3	—	2,0	2,0	—	—	—	—	—	—	—
NH_4NO_3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,5	0,5	0,5	0,5	3,0	0,5	0,5	1,0	2,0	2,0
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—
$\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	—	0,01	0,01	0,01	—	—	—	—	—	—
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
KH_2PO_4	1,5	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	—	2,0	5,0	—
$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
$(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$	—	—	—	—	—	0,1	2,0	2,0	—	—
CaCl_2	—	0,5	0,5	0,5	—	—	0,1	—	—	—
KCl	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
FeCl_3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
K_2CO_3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
MgCO_3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
K_2SiO_3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Kreide oder Soda	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Weinsäure	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Asparagin	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pepton	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Hefeextrakt Vitam-Bact	—	—	—	—	2,5	—	—	—	3,0	—
Saccharose	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Glukose	10,0	50,0	60,0 ^{a)}	30,0	100,0	100,0	100,0	150,0	150,0	150,0
Leitungswasser	1000	1000	1000	1000	1000	—	—	—	—	—
Aqua dest. (+ bidest.)	—	—	—	—	—	1000+	1000+	1000+	1000+	1000+
pH nach Literaturangabe	5,0	4,5	4,5	—	5,8	4,5	6,0	7,6	7,0	7,0
pH vor Steril. } nach eigener	4,8	5,2	—	5,9	—	5,2	6,9	7,2	—	7,5
pH nach Steril. } Feststellung	4,8	4,8	—	5,5	—	5,5	6,1	8,1	—	8,2

Die Lösungen, Autoren und Bezeichnung im Versuch.

Substanzen (Angaben in g bzw. ml)	KYG	PULST	RAULIN I	RAULIN II	RAULIN- THOM	READER	RICHARD mod. n. Luz.	WOELTJE	ZENTMYER mod. n. FELDMANN
	B ¹⁾	I	P	S ²⁾	C	D	E	R	Q
Ca(NO ₃) ₂ · 4 H ₂ O	1,0	—	—	—	—	0,4	—	—	—
KNO ₃	—	0,13	—	—	—	—	—	—	—
NaNO ₃	—	—	—	—	—	—	—	—	—
NH ₄ NO ₃	—	—	3,0	2,66	—	—	10,0	—	—
MgSO ₄ · 7 H ₂ O	0,25	0,16	—	0,4	—	—	2,5	2,5	1,0
(NH ₄) ₂ SO ₄	—	—	0,19	—	0,25	0,7	—	—	—
FeSO ₄ · 7 H ₂ O	—	—	0,25	0,32	0,07	3,0	—	—	—
ZnSO ₄ · 7 H ₂ O	—	—	0,052	0,32	0,07	—	—	—	—
KH ₂ PO ₄	0,25	1,035	—	—	—	1,0	5,0	5,0	1,5
(NH ₄) ₂ HPO ₄	—	—	0,45	0,4	0,6	—	—	—	—
(NH ₄)H ₂ PO ₄	—	—	—	0,16	—	—	—	—	—
CaCl ₂	—	—	—	—	—	—	—	—	—
KCl	—	—	—	—	—	—	—	—	—
FeCl ₃	0,25	—	—	—	—	—	—	—	0,01
K ₂ CO ₃	Spur	—	0,45	—	0,6	—	0,02	—	—
MgCO ₃	—	—	0,3	—	0,4	—	—	—	—
K ₂ SiO ₃	—	—	0,025	—	0,07	—	—	—	—
Kreide oder Soda	—	—	—	—	—	0,5 NaCl	—	—	—
Weinsäure	—	—	3,0	—	4,0	—	—	—	—
Asparagin	—	—	—	0,71	NH ₄ - Tartrat	—	—	10,0	2,0
Pepton	—	5,0	—	—	4,0 g	—	—	—	—
Hefeextrakt Vitam-Bact	5,0	—	—	—	70,0	—	—	75,0	2,0
Saccharose	20,0	40,0	—	46,6	—	10,0	50,0	1000	25,0
Glukose	—	—	52,0	—	—	—	—	—	1000
Leitungswasser	—	—	1000	2)	1500!	1000	1000	—	—
Aqua dest. (+ bidest.)	1000	1000+	1000	—	—	—	—	—	—
pH nach Literaturangabe	—	—	—	—	—	—	—	—	5,2
pH vor Steril.	5,1	5,9	—	4,5	—	5,6	4,0	—	—
pH nach Steril. } Feststellung	5,1	5,7	—	4,5	—	5,0	4,6	—	—

1) KYG-Lsg. nach BAZZIGHER = Knopsche Lösung + Yeastrel + Glukose.

2) MgSO₄ und Weinsäure mit aqua dest. auf 100 ml bringen (Lsg. I), die übrigen Bestandteile mit Leitungswasser auf 800 ml bringen (Lsg. II). Zur fertigen Lösung II fügt man 66 ml der Lösung I hinzu.

3) An Stelle von Saccharose Melasse verwenden!

Tabelle 3

Wachstum der Stämme auf den verschiedenen Medien
(Subm. = Submersmyzel, Obfl. = Oberflächendecke)

Nähr- lösung	Stamm							
	I		II		IV		V	
	Subm.	Obfl.	Subm.	Obfl.	Subm.	Obfl.	Subm.	Obfl.
B	++	+	+++	++++	+++	++++	+	—
D	+++	—	+++	++	++	++	++	++
E	++++	++	+++	+	++++	+	++	++
F	++	++++	+++	++++	++	++++	++	++
G	++	++++	++	++++	++	++++	++	+++
H	++++	—	++++	—	÷	—	+++	—
I	++++	++++	++++	++++	+	++++	++	++++
L	++	+++	+++	+++	++	+++	++	+
M	++	+++	++	+++	++	++++	++	++++
N	++	++	+	+	+++	+++	++	+
S	++++	+	++++	+	+++	++++	++++	++
T	++	++++	++	+	++	—	+++	++

Zeichenerklärung: ++++ = sehr starkes Wachstum,
 +++ = starkes Wachstum,
 ++ = schwaches Wachstum,
 + = sehr schwaches Wachstum,
 — = kein Wachstum.

Tomatensorten fanden „Bonner Beste“ sowie bei den letzten Versuchen die sehr empfindliche amerikanische Sorte „Bonny Best“ Verwendung. Je Verdünnungsstufe sind wenigstens drei bis fünf Testblätter ausgewertet worden.

Durch die Mannigfaltigkeit der Symptome war die Auswertung außerordentlich erschwert. Im allgemeinen konnten zwei Symptomgruppen unterschieden werden, die sich aber oft überlagerten und selten streng voneinander abzugrenzen waren:

1. Blattflächensymptome, die das Symbol K (= Kollaps) erhielten. Hierbei traten zu Anfang scharf umgrenzte, aber unregelmäßig geformte, kleine nekrotische Flecke auf den Interkostalfeldern der Blattflächen sowie an den Blatträndern und -spitzen auf. An den nekrotischen Stellen war das Grundgewebe der Blätter kollabiert. In schräger Aufsicht ließ sich das eingefallene Gewebe gegenüber dem unveränderten deutlich wahrnehmen, da es sich wie eine dünne straffe Membran zwischen dem intakten Grundgewebe ausspannte.

Im weiter fortgeschrittenen Stadium flossen die nekrotischen Flecke zusammen, so daß im Endeffekt die ganze Blattfläche nekrotisch war und schließlich bis auf schmale Bezirke entlang der Hauptadern verdorrte. Diese selbst blieben symptomlos. In der Endphase zeigte das typische Bild völlig verdorrte Blattflächen an intakten Stielen und Mittelrippen. Es entsprach

auffallend den von GÄUMANN und JAAG (1950), GÄUMANN, NAEF-ROTH und MIESCHER (1950) und GÄUMANN, KERN und SAUTHOFF (1952) für die Schädigung durch Lycomarasmin beschriebenen Bildern.

2. Stengel- und Blattrippensymptome, die das Symbol W (— Welke) erhielten. Hier war die toxische Schädigung durch einen allgemeinen Turgorverlust des ganzen Fiederblättchens gekennzeichnet, was sich besonders im Erschlaffen und Welken der Rhachis äußerte. Doch konnte auch die gesamte Blattspreite erschlaffen, so daß im Endstadium das ganze Fiederblatt welk nach unten hing und verdorrte. In diesem letzten Stadium war vielfach ein Kollaps des unteren Petiolusteiles zu beobachten, der sich in Abhängigkeit von der Toxinkonzentration verschieden weit nach oben erstreckte. Das mazerierte Grundgewebe ließ sich dort ohne weiteres von den Gefäßelementen lösen. Vielfach schrumpften auch die unteren Rhachispartien fädig zusammen, und es traten typische rillenartige Vertiefungen auf (Abb. 2). Man kann nicht umhin, an die Symptome erinnert zu werden, die GÄUMANN, NAEF-ROTH und KOBEL (1952) für Fusarinsäure und MIESCHER (1950) für Patulin beschrieben haben (vgl. dort die entsprechenden Abbildungen).

Zu diesen Symptomen trat in manchen Fällen noch eine Bräunung der Gefäßpartien, die sich von der Schnittfläche verschieden weit nach oben erstrecken konnte. Hin und wieder war auch eine Versteifung des Testblattes zu beobachten. Diese Erscheinungen waren jedoch seltener und traten ziemlich regellos auf, so daß sie für eine Bonitierung ausschieden. Die oben geschilderten Stengel- und Blattflächensymptome überdeckten sich zwar häufig, doch traten sie regelmäßig auf. Nach ihnen wurde ein in fünf Stufen unterteiltes Bonitierungsschema aufgestellt.



Abb. 2. Rillenbildung an der Basis eines Testsprosses, verursacht durch 20-Tage-Kulturfiltrat des Wirtelpilzes

K — Blattsymptome (Kollaps)

W — allgemeine Welke

K 0 — keine Schädigung

W 0 — keine Welke

K 1 — vereinzelt kleine Flecke

W 1 — leichtes Erschlaffen

K 2 — etwas größere Flecke

W 2 — deutliche Welke

K 3 — die halbe Spreite mit nekrotischen Flecken

W 3 — starke Welke

K 4 — $\frac{3}{4}$ der Spreite nekrotisch

W 4 — sehr starke Welke

K 5 — total kollabierte Blattflächen

W 5 — totaler Zusammenbruch

Auf den Lösungen G (CZAPEK-DOX) und I (PULST) wuchsen alle Stämme am besten. Die geringste Wachstumsintensität hatte der Stamm V, während sich Stamm IV durch ein besonders starkes Wachstum auszeichnete.

Die Kulturfiltrate hatten meist eine höhere Wasserstoffionenkonzentration als die Nährlösung vor der Beimpfung. Deshalb war bei den Toxintestungen kein NH_3 -Fehler zu befürchten. Die Testung der Filtrate hatte das in der Tabelle 4 wiedergegebene Ergebnis. Als Kontrollen sind die unveränderten Nährlösungen mitgetestet worden, da diese einmal in ihrer Gesamtkonzentration (Salze + Zucker) eine schädigende Wirkung auf die Pflanzen ausüben konnten, und zum anderen ist es denkbar, daß einzelne Ionen oder Puffersysteme der Testpflanze nicht zusagen.

Tabelle 4

Die toxischen Wirkungen der einzelnen Kulturfiltrate
und der sterilen Nährlösungskontrollen

Durchschnittswerte von je fünf Wiederholungen

(W = allgemeine Welke, K = Kollaps auf Blattspreite, 0 = ohne Symptom,
— = nicht getestet)

Nährlösung	Kontrolle	Kulturfiltrat von Stamm			
		I	II	IV	V
B	0	W 0,5	W 2	W 0,5	0
D	0	0	0	K 1	0
E	W 1	K 2	K 1	K 2	K 2
F	W 1	W 3 K 3	W 3 K 1	W 3	W 3
G	W 0,2	W 4 K 5	K 5	K 4	W 2 K 1
H	W 1	W 0,5	W 0,5	—	W 3
I	W 1	W 5	K 3	K 4	K 3
L	0	W 2	W 2	W 0,5	W 3 K 1
M	K 2	K 1	W 0,5 K 1	K 5	K 2
N	K 2	K 3	K 2	K 3	K 4
S	K 2	W 2 K 2	W 1 K 1	W 2 K 3	W 2 K 2
T	K 3	K 5	K 3	K 5	K 5

Natürlich besagen diese Kontrollen nicht viel, da durch den Stoffwechsel des Pilzes die ursprüngliche Zusammensetzung der Lösung weitgehend verändert wird; Kohlenhydrate werden verbraucht und umgebaut, es entstehen neue Stoffe, wie organische Säuren, Polysaccharide usw., die vorher nicht enthalten waren. Es erschien uns aber von anderen Gesichtspunkten her interessant, Auskunft darüber zu erhalten, inwieweit die unbeimpften Nährmedien selbst schon Welkeerscheinungen hervorrufen. Das Ergebnis zeigt, daß nahezu alle geprüften Nährlösungen eine solche Wirkung hatten, wenngleich auch in relativ geringem Maße. Völlig ohne Schädigung auf die Testblätter waren nur die Lösungen B, D und L. Von den anderen Lösungen erzielte G die geringste Welkewirkung.

Bei den Kulturfiltraten hatten die Lösungen F, G, I und T die stärksten Wirkungen. Am wenigsten war die Bildung phytotoxischer Stoffwechselprodukte durch die Nährlösungen B und D gefördert worden.

Nach diesen Ergebnissen benutzten wir für die weiteren Untersuchungen die Nährlösung G (nach CZAPEK-DOX). Sie stellte neben I das günstigste Medium für das Wachstum der Stämme dar, ergab bei allen Stämmen ein hoch toxisches Kulturfiltrat und war unbewachsen, d. h. im unveränderten Zustand kaum schädlich für die Testblätter.

Nach WINSTEAD und WALKER (1954) eignet sich Weizenkleie gut als Nährboden für Toxizitätsuntersuchungen an Pilzen. Die Toxine lassen sich durch Extraktion gewinnen. Es erschien uns angebracht, auch dieses Substrat in die Versuche einzubeziehen.

Je 20 g Weizenkleie wurden in die üblichen Kulturgefäße (Erlenmeyer-Kolben) eingewogen und mit 35 ml Leitungswasser durchfeuchtet. Die Sterilisation erfolgte nach Verschluss der Kolben mit Wattestopfen bei 120 °C 20 Minuten im Autoklaven. Beimpft wurde wieder mit 1 ml Sporensuspension. Im Thermostaten bei 24 °C war das Wachstum sehr üppig, und schon nach zehn Tagen hatten die Myzelien das Substrat durchwuchert. Zur Gewinnung des Extraktes sind die Weizenkleie-Kulturen mit 150 ml Leitungswasser versetzt worden; die ziemlich feste Myzel-Kleie-Masse zerkleinerten wir vorher mit Hilfe eines Glasstabes. Dann blieb das Ganze 24 Stunden stehen. Am nächsten Tage wurde durch Papierfilter und Glaswatte abfiltriert.

Die Testung der welkeaktiven Wirkung des Filtrates erfolgte in der schon oben beschriebenen Weise. Sie verhielt sich bei den einzelnen Stämmen wie folgt:

Stamm	I	II	IV	V
Welkegrad	K 3	K 4	W 5 K 4	K 4

Man sieht also bei allen Stämmen eine ziemlich hohe Aktivität.

Zur Kontrolle extrahierten wir unbeimpftes Weizenkleiesubstrat, das mit den Kulturen im Brutschrank aufbewahrt worden war, in gleicher Weise wie die bewachsenen Substrate. In allen vier Verdünnungsstufen ergab sich die gleiche Schädigung von W3. Um zu prüfen, welche Ursachen dieses starke Welken hat, schnitten wir von den gewelkten Blättern aus den Kontrollextrakten sowie aus den Kulturextrakten 2 bis 3 cm der Rhachisbasis ab und stellten die Blätter in reines Leitungswasser. Binnen kurzer Zeit erholten sich die Kontrollen, während die Blätter aus dem Kulturextrakt unter gleichen Bedingungen ihre Turgeszenz nicht wieder erlangten. Diese Beobachtung deutete auf eine mechanische Verstopfung der Leitungsbahnen bei den Kontrollblättern hin, was sich auch bei weiterer Untersuchung von Freihandschnitten der Rhachisenden bestätigte. Es erwies sich nämlich bei Anwendung der Jod-Reaktion, daß alle Gefäßlumina der Kontrollpflanzen im unteren Abschnitt durch die nicht veränderte Stärke der Kontrollextrakte verstopft waren. In den Kulturextrakten war keine Stärke mehr nachzuweisen, was gleichzeitig auf die Bildung von Amylase bei unserem *Verticillium albo-atrum* hinweist.

Mit den beiden in Vorversuchen gefundenen geeigneten Substraten, Czapek-Dox-Nährlösung und Weizenkleie, konnten nunmehr größere Ver-

suchsreihen angesetzt werden. Der erste Versuch galt der Klärung der Frage, ob Temperatur und Kulturdauer die Bildung der toxischen Substanzen beeinflussen. Hierzu sind parallele Versuchsreihen bei drei verschiedenen Temperaturen angesetzt worden und zwar

Reihe 1 bei etwa $18^{\circ} - 21^{\circ}\text{C}$ (Zimmertemperatur),

Reihe 2 bei etwa $24^{\circ} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ (Brutschrank 1),

Reihe 3 bei etwa $28^{\circ} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ (Brutschrank 2).

Die Bebrütung erfolgte stets im Dunkeln.

Die Versuche mit Weizenkleie hatten folgende Ergebnisse:

Nach zwölf Tagen wurde die erste Serie, nach 25 Tagen die zweite und nach 42 Tagen die letzte Serie entnommen. Die Bewertung des Wachstums erfolgte nach dem Bewuchs der Kleieoberfläche mit Myzel. Die Herstellung der wäßrigen Extrakte ist bereits beschrieben worden. Nach Feststellung der cH^{+} wurden die Extrakte in der oben geschilderten Weise mit drei Wiederholungen je Verdünnungsstufe zum Welketest verwendet.

Das Wachstumsoptimum lag bei allen vier Stämmen deutlich bei Zimmertemperatur. Mit steigender Bebrütungstemperatur und längerer Kulturdauer nahmen Farbintensität der Extrakte zu und die cH^{+} ab. Die Farbe bewegte sich zwischen einem hellen Braun bis Dunkelbraun. Die cH^{+} hielt sich in Bereichen schwach saurer bis neutraler Reaktion, so daß kein NH_3 -Fehler zu befürchten war. Nach 42 Tagen war bei allen Temperaturstufen ein für den jeweiligen Stamm konstanter Aziditätsgrad erreicht, der sich, wie Stichproben ergaben, auch bei verlängerter Kulturdauer (70 Tage) nicht änderte.

Das Ergebnis des Welketestes mit den Weizenkleiekultur-Extrakten ist in Tabelle 5 niedergelegt. Die Zahlen stellen die Durchschnittswerte von jeweils drei Testblättern dar. Zunächst scheint das Bild sehr verwirrend und ohne Zusammenhang zu sein. Bei näherer Betrachtung fällt auf, daß die Blattnekrosen (K) in der Verdünnungsreihe 1 : 8 bei allen vier Stämmen nur wenig aufgetreten und in der Temperaturreihe 3 (28°C) sogar gänzlich verschwunden waren. Die anderen Temperaturreihen zeigten in dieser Verdünnung das Symptom ebenfalls nur wenig. Dies gestattet zunächst den Schluß, daß mindestens zwei toxische Prinzipien gebildet werden, ein Welke- und ein Nekrosetoxin, wobei das letzte in stärkeren Verdünnungen wirkungslos wird. Durch beide Toxine sind irreversible Schädigungen an den Testpflanzen hervorgerufen worden.

Stamm I hatte seine größte Toxinaktivität zweifellos bei 18°C . Eine Abhängigkeit der Menge toxischer Substanzen von der Kulturdauer konnte kaum gefunden werden. Bereits am 12. Tage waren Toxine vorhanden, die mit zunehmender Kulturdauer eher abnahmen. Dagegen konnte man bei Stamm II mit dem Alter der Kulturfiltrate eine deutliche Zunahme der Welkesymptome (W) beobachten. Das Temperaturoptimum der Toxinproduktion lag hier wie auch bei den beiden Stämmen IV und V bei 24°C . Die Kulturdauer ist bei IV und V offenbar ohne Einfluß auf die Menge der gebildeten schädlichen Stoffe.

Tabelle 5

Ergebnis des Welketestes mit Weizenkleie-Myzel-Extrakten

Die Zahlen sind Durchschnittswerte von je drei Testblättern (W = allgemeine Welke, K = Blattnekrosen, — = ohne Schädigung)

Stamm	Kultur- dauer in Tagen	1 : 1						1 : 2						1 : 4						1 : 8					
		18 °C		24 °C		28 °C		18 °C		24 °C		28 °C		18 °C		24 °C		28 °C		18 °C		24 °C		28 °C	
		W	K	W	K	W	K	W	K	W	K	W	K	W	K	W	K	W	K	W	K	W	K	W	K
I	12	3,3	—	1,5	3,3	2,0	1,0	—	—	3,0	1,0	1,6	—	3,0	—	1,3	0,6	2,0	0,6	2,6	—	0,6	—	1,6	—
	25	3,0	4,0	2,0	2,0	2,0	—	2,0	1,0	1,6	3,0	2,0	1,0	2,0	0,5	2,0	0,5	2,0	0,5	2,0	0,3	1,5	—	1,0	—
	42	4,0	2,0	2,0	1,0	2,0	1,0	2,0	—	2,0	2,0	2,0	—	2,0	—	1,6	—	2,0	—	2,0	—	1,0	—	1,0	—
II	12	1,0	5,0	0,3	2,3	1,0	—	1,0	0,6	2,1	2,6	0,6	0,6	3,0	0,5	0,3	1,6	2,0	—	—	1,6	0,3	0,2	1,0	—
	25	0,5	5,0	1,0	—	1,0	1,0	—	1,0	1,5	2,0	2,5	—	—	2,6	1,5	1,8	2,0	0,8	—	—	1,0	—	1,0	—
	42	3,0	3,0	2,0	—	2,0	—	1,0	2,0	3,0	2,0	2,0	2,0	—	2,6	3,0	2,2	3,1	—	1,2	—	2,0	—	2,0	—
IV	12	—	3,6	4,0	—	3,0	1,0	2,3	1,3	3,0	—	2,2	—	2,0	1,0	3,0	—	1,8	—	1,3	0,2	1,3	—	0,8	—
	25	1,0	4,0	2,0	3,0	1,0	2,2	2,0	—	3,0	1,5	2,0	0,5	2,0	0,5	2,0	1,0	1,8	—	1,6	—	1,8	—	0,8	—
	42	1,0	2,0	2,3	1,0	3,0	2,6	2,6	—	3,0	—	2,6	0,5	1,8	—	2,0	—	1,6	—	1,6	—	1,8	—	0,8	—
V	12	0,2	5,0	1,0	5,0	—	3,0	—	4,6	—	3,0	1,5	—	—	2,6	1,0	0,8	—	1,2	0,2	—	0,4	—	—	—
	25	—	4,0	—	5,0	0,8	3,0	—	4,3	1,8	4,0	—	—	0,5	3,0	1,0	—	1,0	0,5	0,3	—	0,2	—	0,2	—
	42	—	5,0	—	5,0	—	3,2	—	4,6	2,0	2,0	1,5	3,0	0,5	4,0	3,0	2,0	1,0	2,0	0,5	—	—	—	0,2	—
Kon- trolle	12	3,0	—	3,0	—	2,0	—	3,0	—	3,0	—	3,0	—	3,0	—	3,0	—	3,0	—	3,0	—	3,0	—	3,0	—
	25	3,0	—	3,0	—	3,0	—	3,0	—	3,0	—	3,0	—	3,0	—	3,0	—	2,0	—	3,0	—	3,0	—	3,0	—
	42	3,0	—	3,0	—	3,0	—	3,0	—	3,0	—	3,0	—	3,0	—	3,0	—	3,0	—	3,0	—	3,0	—	3,0	—

Die auffällige Erscheinung des Symptoms W 3 bei allen Kontrollen hat bereits bei der Besprechung der einleitenden Testversuche seine Erklärung gefunden. Für eine mechanische Verstopfung, d. h. für ein rein physikalisch ausgelöstes Welken, spricht die Konstanz, mit der auch hier in allen Verdünnungsstufen der gleiche Welkegrad auftritt.

Im allgemeinen ist aus diesem Versuch festzustellen, daß die Bildung phytotoxischer Stoffwechselprodukte bei *V. albo-atrum* in Weizenkleiekulturen von der Temperatur stark beeinflußt wird.

Zur Feststellung der Thermostabilität wurde ein Teil der Extrakte zehn Minuten im Dampftopf auf 100 °C erhitzt. Aus dem Welkeversuch mit diesen erhitzten Lösungen gewinnt man wiederum den Eindruck, daß mindestens zwei Toxine oder, vorsichtiger ausgedrückt, zwei phytotoxisch wirkende Prinzipien vorliegen. Das eine, für die Welkesymptome verantwortliche, ist weitgehend thermostabil, während das andere, das die Blattflächen schädigt, thermolabil sein muß, denn der erhitzte Extrakt rief fast allgemein nur noch ein irreversibles Welken hervor, ohne daß Blattnekrosen auftraten.

Die außerordentlich starke Streuung der Werte bei den Welkeversuchen ist auf die trotz aller Sorgfalt niemals zu erreichende biologische Gleichwertigkeit der Testpflanzen zurückzuführen (GÄUMANN und NAEF-ROTH 1951). Temperatur (GÄUMANN 1951), jahreszeitlich schwankende Toxinempfindlichkeit (GÄUMANN und NAEF-ROTH 1953) sowie die Ernährung der Testpflanzen (ZÄHNER 1955) spielen eine nicht unerhebliche Rolle. Diese Faktoren hat man bei der Bewertung der Ergebnisse in Rechnung zu ziehen.

Weiter die Ergebnisse der Versuche mit der Czapek-Dox-Lösung:

Die Flüssigkeitskulturen wurden bei 24 °C bebrütet. Auf die methodischen Einzelheiten noch einmal einzugehen, erübrigt sich.

Durch die Bestimmung der Myzeltrockengewichte sind zunächst die Wachstumskurven ermittelt worden (Abb. 3). Stamm I und IV ragen durch besondere „Massenentwicklung“ hervor.

Ihr Maximum wird etwas später erreicht (nach 29 Tagen) als das der beiden weniger stark wachsenden Stämme II und V, bei denen die Kurve bereits nach dem 23. Kulturtag abfällt.

Der Welketest dieses Versuches, der mit 10, 20, 30 und 40 Tage alten Kulturfiltraten durchgeführt wurde, erbrachte wiederum den Beweis, daß die *Verticillium*-Stämme wenigstens zwei verschiedene phytotoxische Stoffe in vitro produzieren müssen. In der Tabelle 6 sind die Ergebnisse der Welketeste mit den drei Stämmen

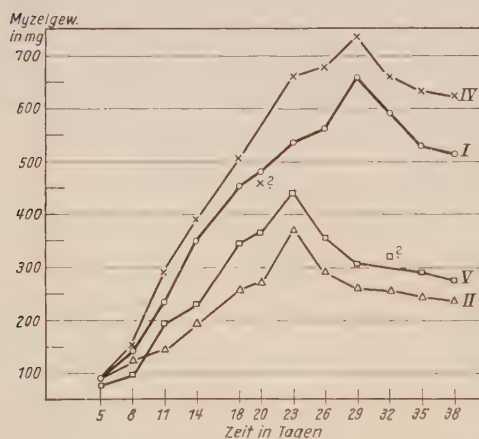


Abb. 3. Die Wachstumskurven von 4 Stämmen von *V. albo-atrum* bei 24 °C auf Czapek-Dox-Nährlösung

I, IV und V dargestellt. Die Werte sind die Durchschnitte von je fünf Testblättern. Man sieht deutlich, wie bei allen drei Stämmen das die Symptomgruppe W erzeugende Agens sein Maximum nach 20 Tagen erreicht hat. In diese Zeit fällt, wie aus der Wachstumskurve hervorgeht, auch der Gipfel der Myzelbildung. Mit längerer Kulturdauer nimmt die Schadwirkung des Kulturfiltrates bezüglich des Symptoms W ab, und bei Stamm I und IV ist das 40-Tage-Filtrat in dieser Hinsicht gänzlich inaktiv geworden. Im Gegensatz dazu nimmt das für die Blattnekrosen verantwortliche toxische Prinzip bis zum Ende der Versuchsperiode deutlich zu. Bei Stamm IV und V tritt es gar erst am 30. Tage in Erscheinung. Der Ursprung dieser Substanz ist also vermutlich im lytischen Zerfall des Myzels zu suchen. Zu bemerken ist auch hier, daß die Schädigungen, d. h. sowohl Welke wie Nekrose, irreversibler Art waren, denn nach dem Einstellen der geschädigten Testblätter in Leitungswasser trat selbst dann keine Erholung ein, wenn vorher die Rhachisenden abgeschnitten wurden.

Tabelle 6

Welketest mit verschieden alten Kulturfiltraten
der Stämme I, IV und V

(W = allgemeine Welke, K = Blattnekrosen)

Stamm	Alter des Kultur- filtrates in Tagen	1 : 1		1 : 2		1 : 4		1 : 8	
		W	K	W	K	W	K	W	K
I	10	0,8	0,6	0,4	0,2	0,4	0,0	0,0	0,0
	20	1,4	0,8	0,8	0,6	0,4	0,0	0,2	0,0
	30	0,8	3,2	0,6	1,4	0,2	1,2	0,0	0,8
	40	0,0	4,0	0,0	2,6	0,0	1,8	0,0	1,2
IV	10	0,8	0,0	0,2	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0
	20	1,4	0,0	1,0	0,0	1,0	0,0	0,8	0,0
	30	1,0	0,2	0,8	0,2	0,6	0,2	0,2	0,0
	40	0,0	1,4	0,0	0,8	0,0	0,4	0,0	0,2
V	10	0,6	0,0	0,4	0,0	0,4	0,0	0,0	0,0
	20	1,6	0,0	1,4	0,0	1,4	0,0	1,0	0,0
	30	1,2	0,2	0,8	0,0	0,6	0,0	0,4	0,0
	40	0,6	2,0	0,2	1,2	0,2	0,4	0,0	0,4

Einige Kolben waren versehentlich bis zum 60. Tage stehen geblieben. Die damit gewonnenen Ergebnisse beim Welketest bestätigen eine weitere Zunahme der die Blattspreiten schädigenden Substanz. Überraschenderweise traten aber auch wieder die allgemeinen Welkesymptome stärker auf. Für diese Beobachtung gibt es zwei Erklärungen. Entweder hat sich der Pilz physiologisch umgestellt, indem er nunmehr unter Ausnutzung einer neuen Kohlenstoffquelle — es wäre an eine organische Säure zu denken, die Glukose war zu diesem Zeitpunkt längst verbraucht (Fehling!) — neu zu wachsen beginnt und dabei wieder die betreffende welkeerregende Substanz bildet. Die zweite Möglichkeit wäre die, daß aus der Lyse des Myzels noch ein zweiter

Stoff stammt, der die gleiche Wirkung wie der erste, vom Pilz aktiv ausgeschiedene hat.

Es liegt durchaus im Bereich der Möglichkeit, daß zwei grundverschiedene Stoffe die gleiche Wirkung haben. Der Pflanze stehen ja im Vergleich etwa zum kranken Menschen nur eine beschränkte Zahl von Mitteln zur Verfügung, auf schädigende Einflüsse zu reagieren (DIMOND und WAGGONER 1953). Dies erschwert die Diagnostik in der Phytopathologie außerordentlich.

So treten z. B. Chlorosen als Effekte vieler Mykosen, Bakteriosen und Virosen auf. Daneben können sie aber auch durch die Einwirkung saugender Insekten entstehen oder als Folge von Mangel bzw. Überschuß an Bodenwasser, Luftfeuchtigkeit, Licht und Wärme auftreten. Daneben gibt es dann noch die funktionelle Chlorose, die sich als Vergilben einer normal oder verfrüht abreifenden Pflanze darstellt. Die Ursache aller Chlorosen ist aber nach WARTENBERG (1949) in einer Senkung des „physiologischen Redoxpotentials“ im chlorotischen Gewebe zu suchen.

Letzten Endes greifen die toxischen Stoffwechselprodukte pilzlicher Parasiten in irgendeinen Stoffwechselprozeß bzw. einen physikalisch-chemischen Zustand der befallenen Pflanze ein. Es ist vorstellbar, daß chemisch verschiedene Stoffe zwar in den gleichen Prozeß aber an ganz verschiedenen Stellen eingreifen. Aus der Literatur wissen wir, daß z. B. Lycomarasmin,

Alternariasäure und Aureomycin die Stengel, Blattstiele und Blattnerven symptomlos passieren und ihre Primärsymptome erst in den Geweben der Interkostalfelder erzeugen. Das entspricht also etwa dem, was in der vorliegenden Arbeit als Symptomgruppe K unterschieden wird. Andererseits schädigen Patulin, Javanicin und Fusarinsäure vorwiegend die Stengel, Blattstiele und Blattnerven — in unserer Arbeit zu vergleichen mit Symptomgruppe W. Daraus sieht man, daß chemisch nicht verwandte Stoffe die gleichen Schädigungen hervorbringen können.

Es gab Gründe zu fragen: Bildet der Wirtelpilz Fusarinsäure? Wiederholt waren bei den Welkeversuchen Schädigungen der Testblätter aufgetreten, die einen Vergleich mit den durch Fusarinsäure verursachten förmlich aufzwingen. So konnten rillenartige Vertiefungen an



Abb. 4. Ein Testblatt, das acht Stunden in aufbereitetem Kulturfiltrat von Stamm II (1 : 4) stand. Die Basis der Rhachis ist stark geschädigt. Blattränder und -spitzen zeigen besonders auf einer Seite starken Kollaps

den Blattstielen bzw. den Stengeln von ganzen Sprossen beobachtet werden (Abb. 2), die sich verschieden weit nach oben erstreckten. In anderen Fällen war das Stengelgewebe aufgeweicht und eingeschnürt (Abb. 4). Die Einschnürung schritt nach oben fort, und der ganze Stengel bzw. Blattstiel konnte dann fädig verdorrt sein (Abb. 5). Dabei behielten die Blätter meist ihre Turgeszenz und boten so an den fädig geschrumpften Stielen ein ungewöhnliches, groteskes Bild. Hin und wieder traten dabei die nekrotischen Flecke auf den Interkostalfeldern der Blattspreiten auf, die uns schon in anderem Zusammenhang bekannt sind. Man vergleiche nun diese kurze Darstellung mit der Beschreibung und den Abbildungen aus den Arbeiten von GÄUMANN, NAEF-ROTH und KOBEL (1952) und GÄUMANN (1957) über Fusarinsäure. Dabei kommen erstaunliche Übereinstimmungen der Symptome heraus, weshalb wir auch bei unseren *Verticillium albo-atrum* das Welketoxin Fusarinsäure vermuteten.



Abb. 5. Symptome nach 24 Stunden Einwirkungszeit von aufbereitetem Kulturfiltrat von Stamm I (1:4). Die gesamte Rhachis ist fädig eingeschnürt. Auch die Blättchen sind geschädigt

Es ist bekannt, daß Fusarinsäure die Keimung der Brandsporen von *Ustilago zae* hemmend beeinflusst (GÄUMANN, NAEF-ROTH und KOBEL 1952, GÄUMANN 1957). Deshalb ist zunächst der Keimungstest mit dem rohen Kulturfiltrat ausgeführt worden. Die Methodik wurde von KERN entwickelt und von KOBEL (1951) und KERN (1952) beschrieben, so daß sich ein Eingehen darauf an dieser Stelle erübrigt. Da die auf Fusarinsäure hindeutenden Symptome zuerst bei einem 110 Tage alten Kulturfiltrat beobachtet worden waren, führten wir den *Ustilago*-Test mit diesen älteren Filtraten durch. Je Kulturfiltrat und Verdünnung wurden etwa 200 Sporen ausgezählt. Die Kontrollkeimung in nur mit Wasser verdünnter Czapek-Dox-Nährlösung betrug 63,8 % (Durchschnitt von 1000 gezählten Sporen). Dieser Wert wurde gleich 100 gesetzt und alle anderen Werte darauf umgerechnet (Tab. 7).

Aus diesen Testen, die mit etwa den gleichen Ergebnissen mehrmals wiederholt wurden, geht hervor, daß die Kulturfiltrate tatsächlich eine Substanz (oder mehrere?) enthalten, die die Keimung der *Ustilago*-Sporen zu hemmen im Stande ist. Die Frage, ob diese Substanz mit der Fusarinsäure identisch ist, sollte mit den nächsten Versuchen beantwortet werden.

Nach einer Mitteilung von ZÄHNER (1954) läßt sich Fusarinsäure papierchromatographisch verhältnismäßig leicht nachweisen. Zur Anreicherung der Säure wird das Kulturfiltrat mit Tierkohle versetzt (2 g je 100 ml), gründlich geschüttelt und abfiltriert.

Danach wird mit einem Methanol-Ammoniak-Gemisch (10 : 1) eluiert und schließlich das Eluat im Vakuum eingedampft.

Tabelle 7

Die Hemmung der Keimung von *Ustilago zeae*-Sporen durch die 110 Tage alten Kulturfiltrate der Stämme I, II, IV und V. Die Zahlen drücken die auf die Kontrollkeimung bezogenen Werte (in %) an gekeimten Sporen aus

Stamm	1 : 1	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16
I	29,9	43,1	42,5	44,1	61,0
II	—	34,8	40,8	59,1	58,9
IV	11,3	18,3	21,5	24,4	27,0
V	0,0	9,6	12,4	20,0	44,7

Von jedem der vier Stämme wurden eine fünf und eine 14 Wochen alte Kultur benutzt. Durch die Kohlebehandlung ist neben dem Duftstoff auch die Bernsteinfarbe der Kulturfiltrate absorbiert worden. Die von der Kohle durch Filtration getrennte Flüssigkeit — nunmehr farblos — wurde zunächst im

Welketest geprüft. Sie rief bei den 14 Wochen alten Kulturen ein verhältnismäßig starkes irreversibles Welken (W 3 bis W 4) hervor, das bei den jüngeren Filtraten etwas schwächer war. Die typischen Rillenbildungen konnten aber nicht beobachtet werden, weil der dafür verantwortliche Stoff offenbar von der Kohle absorbiert war.

Im Parallelversuch wurde ein Myzelextrakt geprüft, der folgendermaßen hergestellt worden war: Mehrmals gewaschene Myzelien wurden im Mörser mit Quarzsand fein zerrieben und anschließend etwa zwölf Stunden mit Wasser extrahiert. Nach dem Abfiltrieren sind die Extrakte nach der oben dargestellten Methode weiterbehandelt worden.

Die angereicherten Kulturfiltrate — durch die Eluierung war die typische Farbe und teilweise auch der Duftstoff der rohen Kulturfiltrate wieder ausgewaschen



Abb. 6. Die Rhachisenden von Testblättern, die in aufbereitetem Kulturfiltrat von Stamm I (1 : 8) standen. Obere Reihe bei pH 6,2, die untere bei pH 4,3. Unten verschieden weit fortgeschrittene Stadien des Einschnürens

worden — sowie die angereicherten Myzelextrakte wurden nun in der Verdünnung 1 : 4 dem Welketest unterworfen. Es wurden hierfür Blätter der sehr empfindlichen Sorte „Bonny Best“ benutzt, die auch GÄUMANN für seine Versuche verwendet hat. Dabei traten wieder in sehr starkem Maße und nach verhältnismäßig kurzer Zeit (sechs bis acht Stunden) die eingangs dieses Abschnittes beschriebenen Symptome am Stiel der Testblätter auf. Vereinzelt waren auch Blattnekrosen zu beobachten. Also wiederum die typischen Fusarinsäuresymptome! Zwischen den verschiedenen alten Kulturen war kaum ein Unterschied feststellbar, dafür war aber die Wirkung des Myzelextraktes meist etwas stärker.

Wenn wir es tatsächlich mit Fusarinsäure zu tun haben, dann muß auch die Wirkung unserer Extrakte von der Wasserstoffionenkonzentration abhängig sein. Nach GÄUMANN, NAEF-ROTH und KOBEL (1952) und GÄUMANN (1957) wirkt Fusarinsäure bei einer cH^+ von pH 4,3 vor allem auf die Stengel und Blattflächen ein. Bei geringerer cH^+ (pH 6,2) treten dagegen die Stengelschädigungen zugunsten der Blattschäden zurück.

Zur Klärung dieser Frage setzten wir einen weiteren Welkeversuch an, wegen Mangels an aufbereitetem Kulturfiltrat bzw. Myzelextrakt diesmal nur in der Verdünnung 1 : 8. Eine Hälfte der Lösungen wurde mittels NaOH (Spur) auf pH 6,2, die andere mit HCl (ein Tropfen) auf pH 4,3 eingestellt. Das Ergebnis zeigte sehr eindeutig ein Schrumpfen des Blattstieles bei einer cH^+ von pH 4,3. Bei pH 6,2 dagegen war dieses sehr auffällige Symptom in keinem Fall zu beobachten (Abb. 6). Auf die geringe Konzentration (1 : 8) dürfte zurückzuführen sein, daß hier keine Blattnekrosen auftraten.

Wir stellen also fest, daß unsere Toxinlösungen in ähnlicher Weise wie die Fusarinsäure in ihrer Wirkung von der cH^+ abhängig sind. Den letzten und überzeugendsten Beweis für die Identität mit diesem Welketoxin sollte schließlich die Papierchromatographie erbringen.

Als Papier fand die Sorte „Schleicher & Schüll 2043 b“ Verwendung. Die aufbereiteten Lösungen wurden entweder als 10 cm langer Streifen (0,1 ml) oder als Tropfen aufgebracht. Als Vergleichssubstanz lief im Chromatogramm eine 1%ige wäßrige Fusarinsäurelösung mit¹⁾. Die Trennung erfolgte mit einem Gemisch aus sekundärem Butanol, Ameisensäure und Wasser (75 : 15 : 10) nach der absteigenden Methode. Nach dem Trocknen (30 min bei 100 °C) wurden die Chromatogramme mit Bromkresolgrün besprüht (40 mg auf 100 ml Wasser, mit NaOH bis zum Farbumschlag nach Blau versetzt). Die Fusarinsäure tritt dann nach diesem von ZÄHNER (1954) angegebenen Verfahren als gelber Fleck mit blaßrotem Rand auf blauem Untergrund in Erscheinung. Der Rf-Wert liegt bei 0,83 bis 0,85.

Der papierchromatographische Nachweis der Fusarinsäure in unseren Kulturfiltraten verlief negativ. Zwar traten vereinzelt gelbe Flecke auf, die in ihrem Rf-Wert der Fusarinsäure hätten entsprechen können, doch fehlte stets der typische rosafarbene Rand, der bei der mitgelaufenen Fusarinsäure diese auch hier charakterisierte.

Zusammenfassend ist zu sagen, daß für das Vorhandensein von Fusarinsäure bei *Verticillium albo-atrum* in vitro drei Tatsachen sprachen: 1. Die

¹⁾ Herr Prof. Dr. GÄUMANN stellte uns freundlicherweise eine kleine Menge synthetischer Fusarinsäure zur Verfügung, wofür wir ihm auch an dieser Stelle nochmals herzlich danken möchten.

keimungshemmende Wirkung roher Kulturfiltrate auf die Brandsporen von *Ustilago zaeae*. 2. Die große Ähnlichkeit der Symptome, die die aufbereiteten Kulturfiltrate an Tomatenblättern der Sorte „Bonny Best“ erzeugten. 3. Die Abhängigkeit der Wirkungsweise von der cH^+ der Lösungen, die die aufbereiteten Kulturfiltrate mit der Fusarinsäure gemeinsam haben.

Da nun aber der spezifische chromatographische Nachweis negativ ausfiel, kann man nur folgende Aussage machen: *V. albo-atrum* bildet, neben anderen Stoffen, in vitro eine Substanz, die in ihrer Wirkungsweise und einigen Eigenschaften der Fusarinsäure zumindest sehr ähnlich ist.

IV. Ergebnisse und Diskussion

1. Durch Vergleich des Krankheitsbildes der „Dürrewelke“ mit den Symptomen der drei bekannten Welkekrankheiten der Luzerne konnte gezeigt werden, daß vielfach Übereinstimmungen zwischen *Fusarium*-Welke und Dürrewelke einerseits und zwischen *Verticillium*-Welke und Dürrewelke andererseits bestehen. Jede der drei Krankheiten ist in der Symptombildung vielgestaltig und die Symptome sind sich ähnlich.

Der Grund für die Vielgestaltigkeit jeder der drei beschriebenen Krankheitserscheinungen dürfte in unterschiedlichen Befallsstärken und in den von Umweltverhältnissen abhängigen Schwankungen des Wasserhaushaltes und der physiologischen Leistungsfähigkeit der jeweiligen Pflanzen zu suchen sein. In diesem Zusammenhang hat DONANDT (1932) auf die Bedeutung der Luftfeuchtigkeit hingewiesen. GÄUMANN (1951) hebt besonders die Auswirkung der frühsommerlichen, erhöhten Temperaturen auf das schlagartige Auftreten verschiedener infektiöser Welkekrankheiten hervor. Ferner führt er den beim Blühen und Treiben entstehenden Nährstoffmangel, die erhöhte Toxinempfindlichkeit der Wirtspflanze, Wachstumsförderung für den Parasiten, sowie thermisch gesteigerte Toxinproduktion und -wirkung als Gründe an. Für Pflanzen wie die Luzerne, die mehrmals im Jahre zum Treiben und Blühen veranlaßt wird, würden folglich bei hohen Tagestemperaturen auch mehrfach während der Vegetationszeit die Bedingungen für einen derartigen Kollaps gegeben sein.

2. In den Gefäßen der Wurzeln erkrankter Luzernepflanzen befinden sich, wie man durch mikroskopische Untersuchungen feststellen kann, in Längsrichtung wachsende Pilzhypen. Gleichzeitige Isolierungen aus den entsprechenden Wurzeln ergaben, daß es sich um Myzel des Wirtspilzes *Verticillium albo-atrum* R. et B. handelt. Es lag deshalb nahe, eine *Verticillium*-Infektion als Ursache der Dürrewelke anzunehmen.

3. Diese Annahme ließ sich durch die Isolierungen bestätigen. Der Grad der mit *V. albo-atrum* befallenen kranken Pflanzen lag, prozentual ausgedrückt, zwischen 25 und 66 %. Der Prozentsatz isolierter Fusarien schwankte zwischen 17 und 28 %, war aber bei Beachtung entsprechender Isolierungsmethoden stets wesentlich niedriger als der Anteil der *Verticillium*-Stämme. Unsere im mitteldeutschen Raum auftretende Dürrewelke der Luzerne ist

demnach mit der von RICHTER und KLINKOWSKI (1938) beschriebenen *Verticillium*-Welke der Luzerne identisch.

Isolierungen aus gesunden Kontrollpflanzen ergaben außer Bakterien verschiedene saprophytische Bodenpilze, darunter einen hohen Prozentsatz *Fusarium* spec., der etwa dem Anteil der *Fusarium*-Isolate aus natürlich infizierten Pflanzen entsprach. Verticillien sind aus gesunden Kontrollpflanzen niemals isoliert worden.

Aus diesen Gründen darf man ohne weiteres sagen, daß Fusarien als Erreger der Dürrewelke ausscheiden. Sie sind — und das gilt sicher ebenso für die anderen gleichzeitig isolierten Mikroorganismen — entweder harmlose Wurzelbewohner der Luzerne oder aber Sekundärparasiten im Gefolge der *Verticillium*-Infektion, die vor allem dort stärker auftreten, wo Wurzelteile bereits zu faulen beginnen.

4. Obgleich es wenig wahrscheinlich war, daß *Fusarium* als Erreger der Dürrewelke in Frage kommen konnte, sind neben der künstlichen Infektion mit verschiedenen Herkunft des Wirtelpilzes auch Beimpfungen mit dem *Fusarium* spec. (Stamm VI) durchgeführt worden. Es stellte sich dabei heraus, daß *Fusarium* weder im Gewächshaus noch bei Feldversuchen einen Befall verursachte.

Infektionsversuche mit *Verticillium albo-atrum* verliefen, soweit es das Symptom der Gefäßbräune in der Wurzel betrifft, stets positiv. Oberirdisch traten Welkeerscheinungen nicht in allen Fällen auf, vor allem nicht bei den Infektionsversuchen in den feuchten Sommermonaten des Jahres 1954. WOLLENWEBER (1922) schrieb: „Man achte bei den Versuchen mit *Verticillium albo-atrum* darauf, daß der Infektionserfolg nicht unbedingt von Welkeerscheinungen begleitet sein muß“. In unseren Versuchen wurde jedoch zu meist wenigstens ein Stengel welk, wobei die an natürlich infizierten Pflanzen auftretende Reihenfolge der Symptome ebenfalls festzustellen war.

Die 1954 infizierten Pflanzen erholten sich später wieder. Viele, während des trockenen Sommers 1953 mit dem Wirtelpilz infizierte Pflanzen gingen dagegen vollkommen zugrunde. Nach dem oben gesagten dürfte anzunehmen sein, daß dieses unterschiedliche Verhalten auf die verschiedenen Witterungsabläufe der beiden Jahre zurückzuführen ist.

Zweifellos wirken sich die Witterungsverhältnisse auch auf die Inkubationszeit aus. Im Frühling und Sommer bei niedriger Luftfeuchtigkeit (60 bis 70 %) infizierte Pflanzen ließen bereits nach drei bis vier Wochen die ersten Symptome erkennen. RICHTER und KLINKOWSKI (1938) erhielten bei gleicher Infektionsmethode erst nach acht Wochen Krankheitserscheinungen. Bei NOBLE, ROBERTSON und DOWSON (1953) erkrankten die ersten Pflanzen vier Wochen nach der Erdinfektion. In unseren eigenen Versuchen beobachteten wir sogar Pflanzen, die bei feuchtem kühlen Wetter (Herbst 1953 bis September 1954) gesund heranwuchsen und erst ein Jahr nach der künstlichen Infektion die charakteristischen Symptome zeigten.

5. Bei der Rückisolierung ergab sich stets eine weit höhere Zahl von *Verticillium*-Isolaten als bei der Isolierung aus natürlich infizierten Pflanzen.

So ließ sich in einem besonderen Falle z. B. der Wirtelpilz aus 90 % der mit einer Sporensuspension besprühten Pflanzen rückisolieren, die im Herbst 1953 infiziert worden waren und erst im folgenden Herbst erkrankten. Man könnte diesen Befund so deuten, daß es die abnorme, durch die Witterungsbedingungen verursachte Inkubationszeit dem Erreger gestattete, die Pflanze — ohne ihr zunächst gefährlich zu werden — gründlich zu durchwachsen, was natürlich die Wahrscheinlichkeit des Gelingens der Isolierung erheblich vergrößerte.

An demselben Material ließ sich auch zeigen, daß eine Korrelation zwischen dem Auftreten von *V. albo-atrum* bei der Isolierung und dem Grad der Krankheitssymptome besteht.

6. Zur Klärung der Pathogenese der Dürrewelke haben wir Untersuchungen über das Toxinbildungsvermögen des Erregers angestellt.

Von zwölf zu diesem Zweck untersuchten Nährlösungen fand die stärkste Toxinbildung in der Nährlösung nach Czapek-Dox statt, wie sich diese Lösung auch hinsichtlich des Wachstums der vier untersuchten Stämme als am günstigsten erwies. Ferner konnten durch Extraktion mit Wasser aus Weizenkleiekulturen der Pilze Stoffe mit phytotoxischen Wirkungen gewonnen werden.

Nach den Ergebnissen der Welketeste kommt man zu der Auffassung, daß *Verticillium albo-atrum* mindestens zwei toxische Prinzipien entwickelt. Das eine Agens muß eine thermostabile Substanz sein, die einen irreversiblen Turgorverlust, ein Welken, verursacht. Das andere Agens ist dagegen ein thermolabiler Körper, ein Stoff, dessen Wirkung durch Erhitzen zerstört wird und der neben anderen Symptomen vornehmlich Nekrosen an den Blattspreiten bewirkt.

Die Bildung der erstgenannten Substanz in der Nährlösung geht parallel mit dem Myzelwachstum und wird mit dessen Ende abgeschlossen. Der zweite Stoff wird während des Myzelwachstums erst verzögert gebildet und tritt nach dem Ende des Wachstums, beim Einsetzen des Gewichtsverlustes der Myzelmengue, im Kulturfiltrat in verstärkter Konzentration auf. Daraus kann man annehmen, daß es sich bei dem Nekrosetoxin um ein Lyseprodukt handelt.

Die Kulturfiltrate der *Verticillium*-Stämme riefen wiederholt Symptome an den Testblättern hervor, die den Fusarinsäure-Symptomen entsprachen. Das führte zunächst zu der Annahme, daß auch der Wirtelpilz ein Fusarinsäurebildner sein könnte, was sich aber nicht bestätigte. Es bestehen lediglich Übereinstimmungen betreffs der Reaktionen eingestellter Testblätter, bezüglich der Abhängigkeit der Wirkungsweise von der cH^+ der Lösungen und in der keimungshemmenden Eigenschaft der Lösungen gegenüber Sporen von *Ustilago zaeae*. Papierchromatographisch ließ sich keine Fusarinsäure in den Lösungen nachweisen, so daß es sich wohl um einen Stoff anderer chemischer Konstitution handeln muß, der zufällig die gleichen Wirkungen hat. Diese Fusarinsäure-ähnlichen Wirkungen könnten von einem dritten toxischen Prinzip von *V. albo-atrum* erzeugt werden. Es besteht aber auch die Möglichkeit,

daß sie auf das Konto eines der oben geschilderten Stoffe, eventuell des Nekrosetoxins, kommen und nur unter besonderen Versuchsbedingungen auftreten.

GREEN (1954 b) fand bei seinen Experimenten, die er mit einem aus kranken Tomaten stammenden Wirtelpilz durchführte, ebenfalls zwei verschiedene Stoffe. Er kam zu der Anschauung, daß das Kulturfiltrat des Erregers eine Eiweiß- (proteinaceous-) und eine Polysaccharid-Fraktion enthalten müsse. Erstere sollte die Blattspreiten schädigen, Welke und Chlorose verursachen, letztere ihre Wirkung nur in Abwesenheit der Eiweiß-Fraktion entfalten und für Bräunung und gummöse Verstopfung der Gefäße verantwortlich sein. Nach seiner Ansicht stellen beide Substanzen Nebenprodukte des pilzlichen Stoffwechsels dar.

Vermutlich ist die GREENsche „proteinaceous-fraction“ mit der Substanz identisch, die in unseren eigenen Versuchen Blattnekrosen verursachte, zumal hier wie dort Thermolabilität festgestellt worden ist. Es ist auch nicht ausgeschlossen, daß unser Luzerne-*Verticillium* ebenfalls die GREENsche Polysaccharid-Fraktion bilden kann, womit nichts über eine Identität dieser Fraktion mit unserem thermostabilen Welketoxin ausgesagt werden soll. Über dessen Chemismus konnten noch keine klärenden Versuche angestellt werden.

Die Ergebnisse der Welkeversuche, die mit Toxinen erzielt werden konnten, welche in vitro gewonnen waren, sind überzeugend. Dennoch darf man noch nicht behaupten, daß in der infizierten Pflanze dasselbe Toxin erzeugt wird und in gleicher Weise zur Wirkung kommt. Es muß also hier wie in vielen anderen Untersuchungen über Welketoxine die Frage offen bleiben, ob der Welketest im Sinne von DIMOND und WAGGONER (1953) echte „Vivotoxine“ demonstriert. Die Wahrscheinlichkeit ist groß, aber für den restlos überzeugenden Beweis sind noch andere Methoden nötig und ist vor allem der Identitätsbeweis der wirkenden Stoffe zu liefern.

Zusammenfassung

1. Im ersten Teil der Arbeit wird das Krankheitsbild einer in Mitteleuropa stark auftretenden infektiösen Welkekrankheit der Luzerne, die als „Dürrewelke“ bezeichnet wird, eingehend beschrieben und mit den Symptomen der drei bisher bekannten Welkekrankheiten dieser wichtigen Futterpflanze verglichen.
2. Als Erreger erwies sich nach umfangreichen Isolierungen und Infektionsversuchen der Wirtelpilz *Verticillium albo-atrum* R. et B.
3. Aus den künstlich infizierten und erkrankten Pflanzen ließ sich der Erreger zu 50 bis 90 % rückisolieren. Der Prozentsatz gelungener Rückisolierungen war bei stärker erkrankten Pflanzen beträchtlich höher (70 %) als bei Pflanzen mit schwächer ausgebildeten Symptomen (11 %).
4. Die Frage nach der Infektionsquelle wird kurz behandelt.

5. *V. albo-atrum* ist auf sein Toxinbildungsvermögen untersucht worden. Es konnten zwei Toxine mit unterschiedlichen Wirkungen und Eigenschaften nachgewiesen werden. Das erste ist thermolabil, ruft an den Blattspreiten Nekrosen hervor und nimmt mit steigender Kulturdauer zu. Das zweite, thermostabile Stoffwechselprodukt verursacht ein allgemeines Welken der Testpflanzen, und sein Maximum fällt etwa mit dem Maximum der Wachstumskurve zusammen.
6. Es wurde eine Ähnlichkeit eines Toxins mit der Fusarinsäure vermutet. Dieses bekannte Welketoxin ließ sich aber in den Kulturfiltraten papierchromatographisch nicht nachweisen. Es muß sich deshalb um einen weiteren Stoff handeln, der noch nicht näher bestimmt werden konnte.

Literaturverzeichnis

- ANONYM, 1951: Einige ziekten en plagen in cultuurgewassen in 1950 en hun bestrijding. Versl. Pl. Ziekten Dienst Wageningen, 118—120.
- APPEL, O., und O. SCHLUMBERGER, 1911: Die Blattrollkrankheit und unsere Kartoffelernten. Arb. dt. Landw. Ges. 190, 1—102.
- BAUMANN, H., 1954: Witterung und Wachstum der einzelnen Monate. Beil. Z. „Die Deutsche Landwirtschaft“ 5.
- BEWLEY, W. F., 1922: „Sleepy disease“ of the tomato. Ann. Appl. Biol. 9, 116—134.
- *BORDAS, J., et P. H. JOËSSEL, 1928: Sur l'action reductrice exercée par des champignons des genres *Fusarium* et *Verticillium*, parasites des vaisseaux du bois. C. R. Acad. Sci. 187, 574—576.
- BRAUN, H., und E. RIEHM, 1953: Krankheiten und Schädlinge der Kulturpflanzen. Verlag Paul Parey, Berlin u. Hamburg, 7. Aufl.
- DIMOND, A. E., and P. E. WAGGONER, 1953: On the nature and role of vitotoxins in plant disease. Phytopathology 43, 229—235.
- DONANDT, S., 1932: Untersuchungen über die Pathogenität des Wirtelpilzes *Verticillium albo-atrum* R. u. B. Z. Parasitenkde. 4, 653—711.
- DOWSON, W. J., 1922: On the symptoms of wilting of michaelmas daisies produced by a toxin secreted by a *Cephalosporium*. Brit. Mycol. Soc. Trans. 7, 383—386.
- —, 1923: The wilt disease of michaelmas daisies. J. Roy. Hort. Soc. 48, 38—57.
- *DUFRÉNOY, J., 1927: Production des nitrites par de *Verticillium* in culture pure. Bull. Soc. Chim. Biol. 9, 935—936.
- *— —, 1928: Recherches relatives aux dépârissements des arbres fruitiers. Off. Rég. Agr. du Midi Bull. Trimestriel 26, 94—96.
- —, et M. L. DUFRÉNOY, 1927: Hadromycoses. Ann. Epiphyt. 13, 195—212.
- GÄUMANN, E., 1951: Über den Einfluß der Temperatur auf den Welkeeffekt beim toxischen Welken. Phytopath. Z. 17, 330—333.
- —, 1957: Über Fusarinsäure als Welketoxin. Phytopath. Z. 29, 1—44.
- —, und O. JAAG, 1946: Über das Problem der Welkekrankheiten bei Pflanzen. Experientia 2, 1—17.
- —, und — —, 1950: Über das toxische und das physikalisch induzierte Welken. Phytopath. Z. 16, 226—256.
- —, H. KERN und W. SAUTHOFF, 1952: Untersuchungen über Welketoxine. Phytopath. Z. 18, 404—415.
- —, und ST. NAEF-ROTH, 1951: Über die unterschiedliche biologische Wertigkeit junger Gewebe von verschieden alten Pflanzen. Phytopath. Z. 17, 233—239.

- —, und — —, 1953: Über den jahreszeitlichen Gang der Welketoxin-Empfindlichkeit der Tomaten. *Phytopath. Z.* **20**, 449—458.
- —, — —, und H. KOBEL, 1952: Über Fusarinsäure, ein zweites Welketoxin des *Fusarium lycopersici* Sacc. *Phytopath. Z.* **20**, 1—38.
- —, — —, und G. MIESCHER, 1950: Untersuchungen über das Lycomarasmin. *Phytopath. Z.* **16**, 257—288.
- GARRETT, S. D., 1950: Ecology of the root inhabiting fungi. *Biol. Rev.* **25**, 220.
- GERLACH, W., 1954: Untersuchungen über die Welkekrankheit des Alpenveilchens (Erreger: *Fusarium oxysporum* f. *cyclaminis*). *Phytopath. Z.* **22**, 125—176.
- GREEN, R. J., 1954 a: The role of nitrates in the wilt response induced by *Verticillium albo-atrum* R. & B. *Phytopathology* **44**, 430.
- —, 1954 b: A preliminary investigation of toxins produced in vitro by *Verticillium albo-atrum*. *Phytopathology* **44**, 433—437.
- GRÜMMER, G., 1955: Die Beziehungen zwischen dem Eiweißstoffwechsel von Kulturpflanzen und ihrer Anfälligkeit gegen parasitische Pilze. *Phytopath. Z.* **24**, 1—42.
- HANSEN, H. R., and A. WEBER, 1948: Plant diseases and pests in Denmark in 1945. *T. Planteavl* **51**, 434.
- HEY, A., 1945: Die wichtigsten Krankheiten und Schädlinge im Samenbau der kleeartigen Pflanzen. *Futterbau* **3**, H. 8.
- HOLZ, W., 1936: Zur Färbung des Myzels von *Fusicladium dentriticum* in Apfelblättern. *Bakt. Z. II*, **94**, 195.
- ISAAC, I., 1953 a: Studies in the interactions between species of *Verticillium*. *Ann. Appl. Biol.* **40**, 623—629.
- —, 1953 b: The spread of diseases caused by species of *Verticillium*. *Ann. Appl. Biol.* **40**, 630—638.
- JONES, F. R., and L. McCULLOCH, 1926: A bacterial wilt and root rot of alfalfa caused by *Aplanobacter insidiosum*. *J. Agr. Res.* **33**, 493—521.
- KAMAL, M., and R. K. S. WOOD, 1955: Role of pectic enzymes in the *Verticillium* wilt disease of cotton. *Nature* **175**, 264—265.
- KERN, H., 1952: Über Beziehungen zwischen dem Alkaloidgehalt verschiedener Tomatensorten und ihrer Widerstandsfähigkeit gegen das *Fusarium lycopersici* Sacc. *Phytopath. Z.* **19**, 351—382.
- KLINKOWSKI, M., und H. LEHMANN, 1937: Kranke Luzerne. Neudamm 1937.
- KOBEL, F., 1951: Untersuchungen über toxische Stoffwechselprodukte von *Nectria cinnabarina* (Tode) Fr. *Phytopath. Z.* **18**, 157—195.
- KÖNEKAMP, A. H., 1949: Ausschnitte aus der Landwirtschaft der Nord-Ost-Staaten der USA unter besonderer Berücksichtigung der Grünlandwirtschaft und des Futterbaus. *Z. Acker- u. Pflanzenbau* **91**, 415.
- LABROUSSE, F., et J. SARÉJANNI, 1930: Recherches physiologiques sur quelques champignons parasites. *Phytopath. Z.* **2**, 1—38.
- LAWRENCE, W. H., 1912: Bluestem of the black raspberry. *Washington Agr. Exp. Stat. Bull.* **108**, 1—30.
- VAN DER LEK, H. A. A., 1918 a: Onderzoekingen over tracheomycosen. De verticilliose van den komkommer. *Med. Landbouwhooesch. (Wageningen)* **15**, 1—45.
- —, 1918 b, 1919: Over de z. g. „verwelkingsziekten“, in het bijzonder die, welke door *Verticillium albo-atrum* veroorzaagt worden. *T. Plantenziekten* **24**, 205—219 u. **25**, 17—52.
- MIESCHER, G., 1950: Über die Wirkungsweise von Patulin auf höhere Pflanzen, insbesondere auf *Solanum lycopersicum* L. *Phytopath. Z.* **16**, 369—397.
- MIHATSCH, H., 1957: Dissertation, Univ. Jena.
- NAUMANN, K., 1953: Studien über eine Welkekrankheit der Luzerne. Manuskript unveröffentlicht.
- NELSON, R., 1950: *Verticillium* wilt of peppermint. *Michigan Agr. Exp. Stat. Techn. Bull.* **221**.
- NOBLE, M., N. F. ROBERTSON and W. J. DOWSON, 1953: *Verticillium* wilt of lucerne in Britain. *Plant Path.* **2**, 31—33.

- NOLL, A., 1943: Über den Nachweis von Rostmyzel im Gewebe der Wirtspflanze. *Angew. Bot.* **25**, 24—28.
- PAESLER, F., 1956: Nematoden der Rhizosphäre welkekranker Luzernepflanzen. *Nachr.-Bl. dt. Pflanzenschutzd.*, n. F., **10**, 108—111.
- PICADO, C., 1923: Sur l'action à distance des champignons phytopathogènes. *Congr. Path. Vég. Strasbourg (Expos. Internat. Centenaire Pasteur)*, 28—34.
- PRESLEY, J. T., 1950: *Verticillium* wilt of cotton with particular emphasis on variation of the causal organism. *Phytopathology* **40**, 497—511.
- RANKIN, W. H., 1910: Root rot of ginseng. *Spec. Crops. N. S.* **9** (94), 349—360.
- RICHTER, H., und M. KLINKOWSKI, 1938: Wirtelpilz-Welkekrankheit an Luzerne und Esparsette. *Nachr. Bl. dt. Pflanzenschutzd.* **18**, 57—58.
- ROSEN, H. R., 1926: Efforts to determine the means, by which the cotton-wilt fungus, *Fusarium vasinfectum*, produces wilting. *J. Agr. Res.* **33**, 1143—1162.
- RUDOLPH, B. A., 1931: *Verticillium* hadromycosis. *Hilgardia* **5**, 197—361.
- SCHEFFER, R. P., S. S. GOTHOSKAR, C. F. PIERSON and R. P. COLLINS, 1956: Physiological aspects of *Verticillium* wilt. *Phytopathology* **46**, 83—87.
- SKOLAUDE, E., und H. WARTENBERG, 1956: Antibiotische Wirkungen von Mikroorganismen eines gemeinsamen Lebensraumes. *Naturwissenschaften* **43**, 526.
- VAN DER VEEN, R., 1930: Onderzoekingen over tracheomykosen. Dissertation Baarn.
- WARTENBERG, H., 1949: Das Chloroseproblem. *Festschr. z. 50jähr. Bestehen der BZA.* S. 179—187, Berlin 1949.
- WEIMER, J. A., 1928: A wilt disease of alfalfa caused by *Fusarium oxysporum* v. *medicaginis* n. var. *J. Agr. Res.* **37**, 419—433.
- WELTZIEN, H. C., 1957: Untersuchungen über das Vorkommen der Luzerneverticilliose und weiterer Luzerneerkrankungen in Südwestdeutschland. *Nachr. Bl. dt. Pflanzenschutzd.* **9**, 42—45.
- WILHELM, St., 1949: Vertical distribution of *Verticillium albo-atrum* in some California soils. *Phytopathology* **39**, 864.
- —, 1950 a: Vertical distribution of *Verticillium albo-atrum* in soi's. *Phytopathology* **40**, 368—376.
- —, 1950 b: *Verticillium* wilt in acid soils. *Phytopathology* **40**, 776—777.
- —, 1951 a: Effect of various soil amendments on the inoculum potential of the *Verticillium* wilt fungus. *Phytopathology* **41**, 684—690.
- —, 1951 b: Is *Verticillium albo-atrum* a soil invader or a soil inhabitant? *Phytopathology* **41**, 949.
- —, and J. FERGUSON, 1953: Soil fumigation against *Verticillium albo-atrum*. *Phytopathology* **43**, 593—596.
- WINSTEAD, N. N., and J. C. WALKER, 1954: Production of vascular browning by metabolites from several pathogens. *Phytopathology* **44**, 153—158.
- WOLLENWEBER, H. W., 1922: Tracheomykosen und andere Welkekrankheiten nebst Ausichten ihrer Abwehr. *Angew. Bot.* **4**, 1—14.
- —, 1932: Fungi imperfecti in SORAUER: *Handb. der Pflanzenkrankheiten* **3** (Teil II), 618—628.
- ZÄHNER, H., 1954: Bestimmung der Fusarinsäure mit Hilfe der Papierchromatographie. *Phytopath. Z.* **22**, 227.
- —, 1955: Über den Einfluß der Ernährung auf die Toxinempfindlichkeit von Tomatenpflanzen. *Phytopath. Z.* **23**, 49—88.
- ZOGG, H., 1957: Über die Beeinflussung von Pathogenität und Wachstum pflanzlicher Parasiten. I. Wirkung der Vorkultur auf verschiedene Fußkrankheitserreger bei Getreide. *Phytopath. Z.* **28**, 423—426.

Die mit * versehenen Arbeiten lagen nur im Referat vor.

Besprechungen

Braun, H. und E. Riehm, Krankheiten und Schädlinge der Kulturpflanzen und ihre Bekämpfung. Achte, neubearbeitete Auflage. 1957. Verlag Paul Parey in Berlin und Hamburg. 368 Seiten mit 346 Abbildungen. Ganzleinen DM 29,80.

Im Laufe von vier Jahren bereits hat sich wiederum eine Neuauflage des bekannten Werkes notwendig gemacht. Die nunmehr achte Auflage ist um 29 Seiten erweitert worden, 56 Abbildungen sind neu eingefügt und eine Reihe früherer Textbilder durch neuere Aufnahmen ersetzt worden.

Bei der Neubearbeitung haben im allgemeinen wie im speziellen Teil des Werkes neue Auffassungen und Erkenntnisse Berücksichtigung gefunden. Es entspricht der praktischen Ausrichtung des Buches, wenn dabei weniger bedeutsame Schädigungen an den hier vorherrschenden Pflanzenkulturen zugunsten der Darlegung von Krankheiten und Schädlingen ausgeschaltet wurden, die in der jüngsten Zeit stärker hervorgetreten sind und mehr Beachtung erfordern. Dementsprechend sind z. B. im Getreideabschnitt der Zwergbrand des Weizens ausführlicher behandelt und die Roggengallmücke neu aufgenommen, die Ausführungen über die Viruskrankheiten bei Tomaten und Obst ergänzt, im Abschnitt Obst die Kragenfäule des Apfels, die Stachelbeerblattwespe und die Mittelmeerfruchtfliege eingefügt und beim Weinstock der Dickmaulrüssler behandelt. In sämtlichen Abschnitten sind Neuerungen in den Bekämpfungsmaßnahmen bei einzelnen Krankheiten und Schädlingen nachgetragen wie etwa die Einsatzmöglichkeit von Thiocarbamaten bei der Bekämpfung des Zwiebelbrandes, des Zwergrostes oder der Kartoffelkrautfäule, die Erfahrungen mit selektiv wirkenden Mitteln bei der Bekämpfung der Spinnmilben oder die biologische Bekämpfung der San José-Schildlaus durch Einsatz von *Prospaltella perniciosi*; für die Feldmausbekämpfung hat sich die hier erwähnte Flächenbegiftung unter Beachtung bestimmter Anwendungszeiten bereits als brauchbar erwiesen. Die Literaturhinweise sind vielseitig ergänzt.

Es ist demnach nicht nur zu begrüßen, daß das Werk vom Buchhandel wieder geliefert werden kann, sondern auch, daß die neue Auflage für das Studium, für die Beratung und die unmittelbare Unterrichtung der Praxis Beobachtungen, Erfahrungen und Literaturhinweise nach dem neueren Stande des Wissens vermittelt. So wird das Werk seinen schon bewährten Dienst weiterhin an vielen Orten tun können. H. MÜLLER, Berlin-Dahlem

Matthews, R. E. F., Plant Virus Serology. University Press, Cambridge 1957. XII + 128 Seiten, 6 Tafeln, 26/6 s.

Der Wert der Serologie für Erforschung und Bekämpfung pflanzenpathogener Viren ist unbestreitbar. Aus diesem Grunde werden serologische Methoden auch in zunehmendem Maße angewendet. Wenn sie trotzdem noch nicht in dem wünschenswerten Umfange berücksichtigt werden, so dürfte das wenigstens zum Teil daran liegen, daß Grundlagen und Technik den Phytopathologen und anderen, die mit pflanzenpathogenen Viren arbeiten, nicht genügend bekannt sind. Dies ist wiederum dadurch zu erklären, daß das notwendige Wissen bisher fast ausschließlich aus der medizinischen Literatur gewonnen werden mußte und nicht alle Erfahrungen und in der Medizin üblichen Methoden ohne weiteres übernommen werden können. Der Autor hat sich mit der vorliegenden Monographie die Aufgabe gestellt, eine kurze Beschreibung der Grundlagen der Serologie und praktische

Hinweise für das Arbeiten mit Pflanzenmaterial und pflanzenpathogenen Viren zu geben. Dies ist ihm vorzüglich gelungen. Das Buch enthält alles Wesentliche und ist so klar und kritisch geschrieben, daß jeder, der ernsthaft serologisch arbeiten will, sich — teilweise bis in methodische Einzelheiten — orientieren kann. Allerdings wird der Anfänger vielleicht hier und da mit der Bewältigung des gebotenen Stoffes einige Schwierigkeiten haben, aber das liegt in der Natur der Sache. Diejenigen, die schon gewisse Erfahrungen haben, werden dem Autor besonders für die Mitteilung bisher nicht veröffentlichter Ergebnisse, die von allgemeiner Bedeutung sind, danken. Das Buch enthält neben einer Einleitung mit einem kurzen geschichtlichen Überblick folgende Kapitel: 1. Präparierung von Viren und Gewinnung von Seren, 2. Verschiedene serologische Verfahren, 3. Routinetests, 4. Verfahren zur Bestimmung von Verwandtschaften zwischen Viren, 5. Praecipitin-Reaktion, 6. Antikörpergehalt von Seren, 7. Bestimmung der Viruskonzentration, 8. Das Absättigungsverfahren (cross absorption), 9. Praecipitin-Reaktion bei Virusgemischen und 10. Anwendbarkeit der serologischen Technik. Das letzte Kapitel geht vor allem auf Schwierigkeiten ein, die den serologischen Test in Frage stellen und zeigt Wege auf, wie diese Schwierigkeiten wenigstens zum Teil überwunden werden können.

Vielleicht ist für den, der noch keine bzw. nicht genügende Erfahrungen in der Serologie besitzt, darauf hinzuweisen, daß nicht alle mit einem Virus gewonnenen Erfahrungen ohne weiteres auf andere übertragen werden dürfen. Der Autor gibt z. B. an, daß der Ring-Test weniger empfindlich sei als der Röhrchen- (tube-) Test und führt dafür Ergebnisse mit gereinigten Präparaten des Turnip Yellow Mosaic an. Referent hat dagegen (in unveröffentlichten Versuchen) mit zentrifugierten, Kartoffel-X-Virus enthaltenden Preßsäften zwischen beiden Methoden keine größeren Unterschiede feststellen können.

Außerdem ist noch zu der Angabe, das Kartoffel-A-Virus sei serologisch nicht nachweisbar, zu sagen, daß bereits im Jahre 1942 von C. STAPP und neuerdings von R. BARTELS das Gegenteil festgestellt worden ist. Diese Bemerkungen können selbstverständlich den Wert des Buches in keiner Weise einschränken. Es wird nicht nur von allen, die serologisch mit pflanzenpathogenen Viren arbeiten, mit aufrichtigem Dank begrüßt werden, sondern auch wegen seiner Bedeutung für allgemeine serologische Probleme Interesse finden.

BERCKS, Braunschweig

von Arx, J. A., Revision der zu *Gloeosporium* gestellten Pilze. Verhandl. Koninkl. Nederlandse Akad. Wetenschappen, Afd. Natuurkunde, 2. Reihe, Teil 51, Nr. 3. N. V. Noord-Hollandsche Uitgevers Maatschappij, Amsterdam, 1957. 153 Seiten, 40 Textfiguren. Preis Hfl. 12,—.

Die Imperfektengattung *Gloeosporium* umfaßt in der heute üblichen Abgrenzung *melanconiale*, meist auf Blättern wachsende Pilze mit einzelligen, farblosen Konidien. Verschiedene Autoren zeigten, daß die Gattung heterogen ist und brachten einzelne Arten an andern Orten unter. Von ARX faßt diese Untersuchungen zusammen und dehnt sie auf die ganze Gattung aus. Er bespricht die über 700 bisher beschriebenen Arten und kommt zu dem Schluß, daß die Gattung *Gloeosporium* nicht aufrechterhalten werden kann. Die meisten Arten sind bei verschiedenen *Melanconiales*-Gattungen mit einzelligen, farblosen Konidien (*Phlyctaena*, *Cryptocline*, *Discula* u. a.) unterzubringen; diese Gattungen werden eingehend beschrieben und in einem Schlüssel zusammengefaßt. Es lassen sich beispielsweise nahezu 300 Arten von der als *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. bezeichneten Nebenfruchtform von *Glomerella cingulata* (Ston.) Sp. et v. Schr. nicht unterscheiden. Andere *Gloeosporium*-Arten müssen in zahlreiche Gattungen der *Melanconiales* mit septierten Konidien, der *Sphaeropsidales* und anderer Reihen eingeordnet werden. Die Arbeit bildet eine willkommene Übersicht der Systematik und Nomenklatur dieser auch für den Pflanzenpathologen wichtigen Pilze.

H. KERN, Zürich

Soeben erschien die 7. Lieferung:

PAREYS BLUMENGÄRTNEREI

Beschreibung, Kultur und Verwendung der gärtnerischen Schmuckpflanzen

Zweite, völlig neugestaltete Auflage

Unter Mitwirkung von zahlreichen Fachleuten

Herausgegeben von

FRITZ ENCKE

Direktor des Palmengartens, Frankfurt a. M.

2 Bände mit etwa 1760 Seiten, etwa 1000 Textabbildungen und 40 farbigen Tafeln

PAREYS BLUMENGÄRTNEREI ist das Meisterwerk, das in Ausstattung und Vollständigkeit der Bearbeitung in Europa seinesgleichen nicht hat. Das Werk gibt für alle gärtnerischen Schmuckpflanzen im Freien und unter Glas jede gewünschte Auskunft über Kultur, Anzucht und Verwendung, natürliches Vorkommen in der Heimat und botanische Abstammung und ist nicht nur von einzigartigem wirtschaftlichen Wert, sondern zugleich auch eines der schönsten gärtnerischen Werke in deutscher Sprache.

Alle wichtigen Arten werden in besonders schönen, eindrucksvollen und typischen Bildern gezeigt, die ihr Bestimmen und Erkennen erleichtern. 40 vielfarbige Tafeln sind die besondere Zierde des Werkes und zeigen in originalgetreuer Darstellung moderne Züchtungen edelster Kulturgewächse, aber auch interessante Seltenheiten. In vieljähriger intensiver Arbeit ist ein Werk entstanden, das nach Inhalt und Ausstattung als Standardwerk des deutschen Gartenbaues bezeichnet werden darf.

Erscheinungsweise und Bezugsbedingungen

Zur Erleichterung seiner Anschaffung erscheint das zweibändige Werk in etwa 22 monatlichen Lieferungen zu einem ermäßigten Subskriptionspreis. Jede Lieferung hat einen Umfang von 80 Seiten und zwei Farbtafeln mit einem mehrfarbigen kartonierten Umschlag. Der Subskriptionspreis einer Lieferung beträgt DM 12,40. Die Subskription verpflichtet zur Abnahme des gesamten Werkes. Einzelne Lieferungen werden nicht abgegeben. Am Schluß jedes Bandes gelangt eine Einbanddecke (Edelholzurnier mit Lederrücken zum Preis von DM 8,40) zur Ausgabe. Mit Erscheinen der letzten Lieferung erlischt die Subskription. Der Preis des kompletten Werkes wird mindestens 10 % über dem Subskriptionspreis liegen.

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

HANDBUCH DER PFLANZENKRANKHEITEN

Begründet von PAUL SORAUER

V. Band: Tierische Schädlinge an Nutzpflanzen, 2. Teil

Fünfte Auflage in 5 Lieferungen

herausgegeben von

Prof. Dr. Dr. h. c. HANS BLUNCK

chem. Direktor des Instituts für Pflanzenkrankheiten der Universität Bonn

Soeben erschienen:

5. Lieferung

Vertebrata

Reptilia, Aves, Mammalia

bearbeitet von

Dr. MICHAEL KLEMM und Dr. KARL MANSFELD

414 Seiten mit 134 Textabbildungen. Ganzleinen DM 88,—

Die vorliegende 5. Lieferung des V. Bandes schließt die Darstellung der tierischen Schädlinge an Nutzpflanzen ab. Es werden hierin die Kriechtiere, Vögel und Säugetiere behandelt, soweit sie als Schädlinge in Erscheinung treten. Im einzelnen werden in wissenschaftlicher Exaktheit Angaben über die Nahrungspflanzen, Verbreitung und Biologie der Schädlinge sowie die daraus abgeleiteten Vorbeugungs-, Abwehr- und Bekämpfungsverfahren gemacht. Sehr umfangreich sind die Literaturhinweise, darunter erstmalig auch Angaben über alte und neue Veröffentlichungen in russischer Sprache. Die Fülle des gebotenen Materials macht diese Lieferung außer für den Leserkreis und die Institute des Pflanzenschutzes auch für Interessenten des Naturschutzes, Vogelschutzes und der Zoologie einschließlich Zoogeographie sowie die Vertreter der allgemeinen Biologie wertvoll.

Inhalt der Lieferungen 1—4:

- | | |
|--|----------|
| 1. Lieferung: Diptera und Hymenoptera. 1953. 320 Seiten mit 89 Abbildungen | DM 80,— |
| 2. Lieferung: Coleoptera. 1954. 608 Seiten mit 154 Abbildungen | DM 144,— |
| 3. Lieferung: Heteroptera und Homoptera I. Teil. 1957, 408 Seiten mit 128 Abbildungen | DM 94,— |
| 4. Lieferung: Homoptera II. Teil (Aphidoidea, Coccoidea). 1958, 586 Seiten mit 257 Abbildungen | DM 147,— |

Die Lieferungen des Bandes V sind einzeln käuflich. Besteller aller 5 Lieferungen erhalten auf die angegebenen Preise einen Nachlaß von 10 %.

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Verlag: Paul Parey, (1) Berlin SW 61, Lindenstr. 44-47, Tel. 61 44 68/69. Herausgeber: Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2, Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. Richter, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Straße 19. Printed in Germany. Druck von A. W. Hayn's Erben, Berlin SO 38. Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des auszugsweisen Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe vorbehalten. — Erscheinungsweise: Jährlich etwa 10—12 Hefte (4 Hefte = 1 Band).